

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930

N° 10

**Recherches sur le dosage des protides
du sérum sanguin et des liquides pathologiques
par la méthode à l'acétone
de Pieltre et Vila**

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

**Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)**

présentée et soutenue le

1930

PAR

Arthur ARCAND

Pharmacien, Lauréat de la Faculté de Montréal

JURY { MM. GRIMBERT, *Président.*
COUTIÈRE, *Professeur.*
FLEURY, *Agrégé.*

PARIS

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1930



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930

N° 10

Recherches sur le dosage des protides du sérum sanguin et des liquides pathologiques par la méthode à l'acétone de Piettre et Vila

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le

1930

PAR

Arthur ARCAND

Pharmacien, Lauréat de la Faculté de Montréal

JURY { MM. GRIMBERT, *Président.*
COUTIÈRE, *Professeur.*
FLEURY, *Agrégé.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1930

Personnel de la Faculté de Pharmacie



ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
 PERROT, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.
 G. DURSENT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, C. ✱, ☉ I.	Chimie organique.
PERROT, O. ✱, ☉ I.	Histoire naturelle des médicaments.
COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
GRIMBERT, ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. ✱, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
BOUGAULT, ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, ✱, ☉ I.	Botanique générale.
TASSILLY, ✱, ☉ I.	Physique.
DAMIENS,	Chimie minérale.

Professeur honoraire : M. A. VILLIERS, ✱, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I.	Minéralogie.
MARC HONNORAT, ✱, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, ✱, ☉ I.	Cryptogamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I.	MM. PICON, ☉ I.
LUTZ, ✱, ☉ I.	FABRE, ☉ A.
LAUNOY, O. ✱, ☉ A.	MASCRÉ, ☉ I.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.	FLEURY, ☉ I.
DELABY, ✱, ☉ A.	BACH, ☉ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, ✱, ☉ I.	Chimie générale.
FABRE, ☉ A. et FLEURY, ☉ I. <i>agrégés,</i>	chargés des travaux de Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ I.	Micrographie.
LEROUX ☉ I.	Physique.
DEVAL, ☉ I.	Microbiologie.
HÉRISSEY, ✱, ☉ I., DELABY, ✱, ☉ A., et PICON, ☉ I. :	<i>agrégés, chargés des travaux généraux de 4^e année.</i>

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, ☉ I.

A MES MAÎTRES FRANÇAIS

MONSIEUR LE PROFESSEUR ACHARD

Secrétaire général de l'Académie de Médecine
• Membre de l'Institut

MONSIEUR LE PROFESSEUR GRIMBERT

• Membre de l'Académie de Médecine

MONSIEUR LE PROFESSEUR COUTIÈRE

Membre de l'Académie de Médecine

*Hommage reconnaissant et
respectueux.*

JE DÉDIE CETTE THÈSE A
MONSIEUR PAUL FLEURY
Professeur agrégé

A QUI JE SUIS REDEVABLE DE MA CULTURE SCIENTIFIQUE

Sentiments de gratitude.

AINSI QU'A MON AMI

PIERRE DUPUIS

SECRÉTAIRE DE LA LÉGATION CANADIENNE DE PARIS

Sentiments de vive affection

Recherches sur le dosage des protides du sérum sanguin et des liquides pathologiques par la méthode à l'acétone de Piettre et Vila

INTRODUCTION

La partie de beaucoup la plus importante de notre travail se rapporte à la séparation des différentes protéines contenues dans le sérum sanguin ou ses dérivés (les épanchements pleuraux et ascitiques).

Nous disposons pour la mener à bien de deux méthodes d'ailleurs très différentes par leurs moyens et par leurs buts : la *méthode aux sels* et la *méthode à l'acétone*.

Nous ferons un rapide exposé de chacune d'elles et dirons les raisons qui ont guidé notre choix.

MÉTHODE AUX SELS

Toutes les techniques proposées pour la séparation des protéines du sérum sanguin en particulier, sont basées sur les recherches de Kauder (1), Hofmeister (2), Starke, Mikailoff, etc., et utilisent la précipitation fractionnée des albumines sous l'action des doses massives de sels neutres : sulfate d'ammonium, de sodium, de magnésium, chlorure de sodium.

D'abord appliquées presque uniquement à la séparation et à l'étude chimique des différentes catégories de protéines contenues dans les milieux biologiques, ces méthodes furent ensuite adaptées au traitement des sérums thérapeutiques en vue d'en concentrer l'activité au maximum.

La première publication ayant pour but la concentration des sérums de faible activité est due à Gibson d'après Piettre (3) (hémolyse) ; elle donna naissance à une foule de travaux à la

1. Kauder G. *Arch. exp. Path. u. Pharmacol.*, 1888, XXIV, p. 247.
2. D'après Paul E. Howe, *Journ. of Biol. Chem.*, 1921, p. 93.
3. *Biochimie de l'hémolyse*, 1927, Piettre et Chrétien,

fois théoriques ou pratiques dans de nombreux laboratoires, Russes d'abord, puis Allemands, Américains, Anglais, etc.

Le choix du sel utilisé dans les recherches sur les protéines en général a varié avec les auteurs.

Le sulfate de magnésie aurait pour inconvénient de provoquer des précipités gélatineux, et de donner des liqueurs filtrant lentement.

Le sulfate de soude fut préconisé par Pinkus (1) qui montra que ce sel possède à la température de 30° centigrade le même pouvoir de précipiter les protéines que le sulfate d'ammonium. Au lieu de sel hydraté, on préfère le sel anhydre ; à la température déjà indiquée, les globulines sont alors précipitées à la demie saturation (environ 25 % de sel), et les albumines à saturation (environ 50 %). Le sulfate de soude permet également le fractionnement des constituants de la peptone de Witte. Il présenterait les avantages suivants : 1° l'azote du précipité peut être dosé directement au Kjeldahl ; 2° le chauffage permet d'éliminer une grande partie du sel ; 3° enfin ce sel est pratiquement non toxique et par suite les matières séparées peuvent être inoculées sans danger aux animaux d'expérience.

Porges (2) et Spiro, puis Homer (3), Mellanby (4) et Paul Howe (5) confirmèrent ces données apportées par Porges. Spiro a montré les effets de l'addition de sels neutres sur la concentration en ions hydrogène des solutions de protéines. Si l'on ajoute dans des solutions de protéines, du sulfate de soude ou de magnésie de façon à avoir pour les 2 sels des concentrations allant de une partie de sel pour 9 parties de solution protéique à 9 parties de sel pour une partie de liqueur protéique, on observe les variations suivantes dans la concentration en ions hydrogène, PH 7,73 à 7,38 pour le sulfate de soude et de PH 7,73 à 7,27 pour le sulfate de magnésie. Dans les mêmes conditions expérimentales le sulfate d'ammonium provoque des changements beaucoup plus importants dans la concentration en ions hydrogène, de PH 7,73 à 5,91.

1. Pinkus, *J. Physiol.*, 1901, XXVII, 57.

2. Porges O. et Spiro K, *Physiol. u. Path.*, 1903, III, p. 277.

3. Homer A., *Biochem., J.* 1909, XIII, 278.

4. Mellanby J., *Journal Physiolog.*, 1909, XXXVIII, p. 288.

5. Paul Howe, *Journal of Biological Chemistry*, 1921, p. 93.

Le sulfate d'ammonium est resté cependant le sel de beaucoup le plus employé à la fois pour l'étude théorique des protéines et la concentration des sérums dans les instituts sérothérapiques. La technique habituellement suivie dans ces derniers temps, est avec quelques variantes la suivante : plasmas ou sérums sont dilués (cette dilution plus ou moins grande a été conseillée par Porges et Spiro et plus particulièrement par Wiener) de la moitié de leur volume d'eau distillée, puis chauffés deux heures à 58°. On précipite alors par un égal volume d'une solution à 30 % de sulfate d'ammonium, puis on filtre sur papier et on lave avec la même solution de sel. Le liquide de lavage une fois réuni au filtrat, on fait une nouvelle précipitation à l'aide d'une solution de sulfate d'ammonium à 50 % de sel. Le précipité volumineux une fois égoutté sur filtre est passé à la presse et mis à dialyser.

Les trois fractions ainsi séparées ont reçu des noms devenus classiques : premier précipité ou englobuline, deuxième précipité ou pseudoglobuline, et albumine restée en solution dans la liqueur saline d'où on peut la précipiter par addition de solution saturée de sulfate d'ammonium puis d'acide sulfurique N/1 ou N/10 jusqu'à obtention d'un pH voisin de 3,8.

En opérant avec le sulfate de soude, Porges et Spiro isolent deux sortes de globulines, une englobuline et deux pseudoglobulines en faisant varier les concentrations de 28 à 36 %, puis de 33 à 42 %, enfin de 40 à 46 % de solution saturée de sel.

Paul E. Howe confirme la présence de ces trois substances et précise les concentrations en sulfate de soude qui réalisent la précipitation complète des globulines I et II, concentrations respectivement de 17,4 et de 21 à 22 % de sel anhydre, à la température de 37° centigrade.

La méthode aux sels conduit donc suivant le sel précipitant utilisé, la dilution du sérum mis en œuvre, la température, la concentration en ions H, etc., à des précipités et à des agrégats variables en nombre et en importance.

Il semble bien que chacun de ces floculats ne représente pas des entités chimiques, mais un simple mélange de protéines résultant d'une rupture d'équilibre dans leur solution sous l'influence des matières salines.

L'usage des sels minéraux pour la séparation des protéines

n'apporte donc aucune garantie sur la composition des diverses fractions tant que ces fractions n'ont pas été soumises aux purifications conduisant à des unités chimiques caractérisées par la composition élémentaire et les principales propriétés physiques et chimiques.

MÉTHODE A L'ACÉTONE.

Cette méthode a été instituée par MM. Piettre et Vila à l'Institut Pasteur de Paris à la suite de longues recherches sur le sérum sanguin effectuées de 1910 à 1920 et interrompues pendant la guerre.

Le point de départ de ces recherches a été l'étude de la dialyse sucrée du plasma en vue d'isoler le fibrinogène des autres substances protéiques du sérum. Les auteurs ont constaté, au cours de leurs expériences, que si la réaction des plasmas mis à dialyser sur sirop de sucre vient à être modifiée dans le sens de l'acidité, soit accidentellement (cette constatation a servi d'indication précieuse) soit par addition ménagée d'acide N/10, il arrive un moment où le fibrinogène précipite sous forme de filaments ou de coagulum fibrineux. Il se produit en outre une modification des protéines telle que si on sèche sur vide sulfurique leurs solutions et qu'on reprenne le résidu ainsi séché par de l'eau distillée, une partie plus ou moins abondante des protéines totales reste insoluble.

L'étude de ces deux fractions a montré que la sérum-albumine est passée en solution, tandis que la sérum-globuline a été insolubilisée à la suite de la neutralisation de l'alcalinité du plasma. Il était dès lors indiqué, en vue d'isoler la globuline d'un plasma ou d'un sérum sanguin, de neutraliser aussi exactement que possible l'alcalinité carbonatée de ces liquides, puis de trouver un procédé permettant de rompre l'équilibre du complexe (sels, lipides, etc.) maintenant en solution ou pseudo-solution la globuline ainsi libérée. Piettre et Vila ont eu alors recours à la précipitation des protéines totales par l'acétone (deux fois et demi le volume du sérum traité) entraînant l'eau, les sels, les lipides et toutes autres substances solubles. Le gâteau des protéines bien essoré sur Büchner, lavé à l'acétone, puis avec de l'éther sec est mis en suspension dans de l'eau.

Dans ces conditions la sérum-albumine passe en solution, se séparant ainsi de la globuline insoluble ; ces deux protéines étant caractérisées par leur composition élémentaire, leurs propriétés physiques et chimiques.

Telle a été la première technique appliquée au traitement des sérums normaux.

Malheureusement, elle n'a pu être appliquée à l'étude des sérums pathologiques, en particulier des sérums thérapeutiques qui présentent assurément un intérêt scientifique beaucoup plus important.

Dans ces produits, la séparation en globuline et albumine se faisait en effet d'une façon incomplète, le lavage de la globuline en particulier était rendu très difficile en raison de son peu de consistance. Et M. Piettre concluait : « Les états pathologiques et plus spécialement l'immunisation provoquent donc dans le sérum des changements nets tout au moins dans l'état physico-chimique de ce sérum. »

Pendant son séjour à la Faculté de Rio-de-Janeiro, M. Piettre a été amené à modifier la technique primitive en vue de l'étude des immunsérums en adoptant une variante déjà envisagée pendant les recherches faites en commun avec M. Vila à Paris. Cette modification consistait à neutraliser l'alcalinité sérique non plus sur le sérum total avant précipitation acétonique, ce qui d'ailleurs est très délicat, mais après cette précipitation. Piettre et Vila avaient en effet constaté que le gâteau de protéines totales obtenu par précipitation acétonique directe du sérum, mis en contact avec l'eau, se redissout assez rapidement et cela d'une façon complète. Bien que, en effet, environ les $\frac{3}{4}$ de l'alcali contenu dans le sérum soit éliminé dans le liquide acétonique aqueux, il en reste une proportion suffisante fixée à la globuline pour en assurer la redissolution aqueuse.

La méthode à l'acétone devient alors d'une application très générale, non seulement vis-à-vis du sérum normal et des sérums pathologiques, mais encore de la plupart des liquides organiques contenant protéines, lipides, substances organiques diverses, sels minéraux, tels qu'exsudats pleuraux, ascitiques, articulaires, plasmas musculaires, lait, blanc d'œuf, urines albuminuriques, etc.

Nous en tracerons les grandes lignes en nous rapportant aux publications successives (1).

La technique comprend trois étapes principales : précipitation des protéines totales et en même temps déminéralisation et extraction des lipides ; floculation de la globuline ; séparation de la myxoprotéine d'avec la sérum-albumine.

1° *La précipitation des protéines totales* s'obtient de la façon suivante : le sérum à traiter, bien refroidi aux environs de 0°, est additionné peu à peu, en agitant fortement, de 2 fois et demi son volume d'acétone purifiée, passant à 56-57° et préalablement refroidie. On laisse reposer quelques instants au froid, puis on essore sur Büchner, en décantant d'abord la partie claire. Une fois le gâteau des protéines bien égoutté, on le malaxe avec soin à l'aide d'une spatule flexible, sur le filtre même, à deux ou trois reprises avec de l'acétone froide de façon à bien enlever l'eau et avec elle les sels minéraux et surtout les substances lipoïdiques. Enfin, on éliminera encore des lipides et les restes d'acétone par une série de lavages à l'éther sec. Il reste finalement une masse blanche, se réduisant aisément en une poudre qu'il reste à traiter pour la séparation des différentes protéines.

2° *La floculation de la sérum-globuline* est effectuée sur la solution aqueuse des protéines totales. Cette solubilisation a lieu en mettant en contact la poudre blanche avec un volume connu d'eau sensiblement égal au volume de sérum initial. Il se produit un gonflement puis une dissolution assez rapide sans qu'il soit besoin d'intervenir autrement que par de rares agitations. Les protéines une fois complètement dispersées dans l'eau distillée, on fait un volume, de préférence supérieur d'un tiers au sérum mis en œuvre, puis on détermine, dans les tubes à hémolyse, sur 6 ou 7 prises d'essais de 0 cme. 5, la quantité d'acide HCl N/100 qui provoque la précipitation complète de la globuline sous l'aspect de flocons blancs se déposant rapidement pour laisser un liquide surnageant parfaitement limpide. On

1. Piettre et Vila, C. R., t. CLXX, 1920, p. 1466 et CLXXI, 1920, p. 372 ; A. Vila, C. R., t. CLXXIV, 1922, p. 1131 ; Piettre, C. R., t. CLXXVIII, 1923 et même tome, p. 333, 1923 ; Piettre, *Journal de pharmacie et de chimie*, 8° série, t. III, p. 97, 1926 ; Piettre et Chretien, *Biochimie de l'hémolyse*.

calcule alors le volume d'acide N/10 ou N/1 à ajouter au reste de la liqueur protéinique préalablement refroidie et saturée d'éther.

L'addition d'acide s'accompagne d'un volumineux précipité de globuline qui se dépose en quelques heures. On décante la liqueur claire, centrifuge le dépôt, lave ensuite à plusieurs reprises avec de l'eau distillée saturée à froid d'éther, la première eau tout ou moins étant jointe à la liqueur claire.

La globuline ainsi séparée peut être purifiée par des dissolutions alcalines suivies de précipitations acides.

3° *La séparation de la myxoprotéine* d'avec la sérum-albumine s'obtient aisément en précipitant à froid la liqueur claire débarrassée de globuline par son volume environ d'acétone froide. Le précipité acétonique centrifugé, bien égoutté, est alors repris par de l'eau distillée, l'albumine entre en solution, et la myxoprotéine se sépare sous l'aspect de gros flocons grisâtres, s'agglomérant et tombant rapidement en une masse visqueuse adhérant au verre, et quand elle est bien débarrassée de toute trace de globuline, c'est-à-dire bien pure, se rétractant comme un caillot avec exsudation de liquide clair entraîné et emprisonné pendant la floculation.

On procède dans les mêmes conditions, à une série de redissolutions suivies de précipitations acétoniques pour éliminer la totalité de la myxoprotéine et purifier en même temps la sérum-albumine.

La méthode à l'acétone conduit ainsi à une séparation pouvant être quantitative des divers constituants du sérum : eau, sels, extraits organiques complexes, lipides, protéines ; mais il est un point qui ne paraît pas, jusque-là, avoir été précisé d'une façon suffisamment rigoureuse. Il s'agit de la séparation de la substance que M. Piettre a appelée provisoirement d'ailleurs « myxoprotéine » et dont il a décrit dès 1922 les propriétés physiques particulières : matière visqueuse, grisâtre, précipitant en gros flocons se réunissant rapidement en une masse, qui se rétracte bientôt en expulsant de petites quantités de liquide aqueux clair et limpide. Soluble dans les sels neutres de concentration moyenne, elle se dissout par exemple dans la solution physiologique (NaCl à 9/1000) en devenant translucide comme cela a lieu pour l'albumine cuite soumise à l'action de la trypsine. Cette propriété la distingue de la sérum-globuline qui

est insoluble dans les solutions salines mais s'y gonfle à la longue.

Elle se différencie de la sérum-albumine par son insolubilité dans l'eau pure, caractère sur lequel repose d'ailleurs le moyen de la séparer, et par l'absence de calcium (0,33 % dans la sérum albumine).

Sa très faible teneur en lipides et surtout en lipides phosphorés (moins de 1 %) la distingue du gliode de Bottazzi très riche en phospho-lipides et en stéroïls.

Depuis, Piettre a apporté des précisions chimiques importantes : absence de cendres, traces de phosphore, teneur moyenne en soufre 1,1 % ; teneur en azote (13,21 chez l'homme, 14,41 chez le cheval). L'ensemble de ces données tend à faire de la myxoprotéine une protéine sérique nouvelle ; notion qui s'est trouvée annoncée dès le début sur le terrain biologique, car dans toutes les localisations spécifiques déjà étudiées par ce savant, dans les immunsérums, la myxoprotéine s'est toujours montrée inactive, ne fixant les anticorps de diverses catégories qu'à l'état d'impuretés physiques.

Chacune de ces méthodes, aux sels ou à l'acétone, a ses avantages et ses inconvénients.

La méthode aux sels a rendu d'éminents services à la science : isolement des diverses protéines, étude chimique de la globuline et principalement des albumines (cristallisation en milieu salin par Hopkins, surtout par Sörensen), études physiques par de très nombreux physico-chimistes parmi lesquels il faut citer Jacques Loeb, etc. Actuellement encore elle est d'un usage courant dans les grands instituts de sérothérapie où elle conduit à la concentration des sérums de titre trop faible pour permettre leur utilisation directe.

Par contre on peut lui reprocher d'exiger un matériel d'étude important en raison des pertes auxquelles elle expose, de nécessiter des fractionnements nombreux avant d'aboutir à des produits purs en raison des entraînements provoqués par les sels, enfin de demander un temps très considérable pour effectuer à chaque séparation de fractions, la dialyse des sels utilisés à dose massive.

Elle est donc d'un emploi assez pénible pour les déterminations quantitatives.

La méthode à l'acétone, la floculation de la globuline mise à part, est également une technique purement physique procédant par précipitations ou agrégations des protéines suivies de dispersion dans l'eau pure. Mais tandis que dans la méthode aux sels, ces changements d'états sont obtenus par actions graduées mais toujours massives de sels minéraux, ici, c'est l'acétone qui déshydratant le milieu, provoque la floculation des protéines sans modifier (1) leur pouvoir de se disperser à nouveau dans l'eau, si on a le soin indispensable d'opérer à basse température comme l'a montré M. Vila en étudiant en particulier les variations de viscosité des solutions de protéines en fonction de la température.

L'emploi de l'acétone a le grand avantage, comparé à celui des sels, d'entraîner d'un seul coup la presque totalité des lipides et des substances minérales, etc., toutes matières qui, on le sait, ont une influence importante sur les propriétés physiques et même chimiques des protéines.

Grâce à cette technique, bien loin d'introduire dans les milieux biologiques déjà si complexes, des substances étrangères qu'il faudra ensuite éliminer avec beaucoup de temps et de peine, on s'achemine au contraire vers leur simplification progressive. Toute fraction nouvelle peut être recueillie et étudiée séparément.

La méthode à l'acétone équivaut donc à une *véritable méthode analytique* encore très perfectible d'ailleurs.

Il nous a semblé intéressant d'étudier cette méthode en vue de son application au sérum humain.

C'est pourquoi, après avoir précisé minutieusement dans une première partie les divers points de la technique, nous avons voulu rendre compte ensuite dans quelle mesure nos résultats étaient comparables avec ceux de la méthode aux sels.

1. Dans les conditions bien précises de température et de concentration d'acétone, les autres propriétés des protéines ne semblent nullement modifiées.

Une preuve très nette en est fournie par les nombreuses recherches de M. Piettre sur les localisations des anticorps dans les immunsérums. On admet que ces anticorps (antitoxines vraies, hémolysines, agglutinines, précipitines, etc.) sont très délicats, et cependant ils se retrouvent presque quantitativement, après le traitement acétonique, avec les différentes protéines isolées par ce traitement.

Nous donnons dans cette deuxième partie les résultats obtenus en appliquant ces deux méthodes à des échantillons d'un même sérum.

D'autre part, la question des lipides avec les protides ayant donné lieu à des travaux récents, nous avons consacré notre troisième partie à l'étude de la pureté, au point de vue lipides, des protides obtenus par la méthode à l'acétone,

Enfin, dans une 4^e partie, nous avons systématiquement, appliqué la méthode à l'acétone à toute une série de sérums humains, aussi bien normaux que pathologiques, de façon, d'une part, à fixer la teneur normale en protides du sérum humain, et d'autre part, à déterminer les principales variations provoquées par les états pathologiques.

Ce travail, commencé au laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté de Pharmacie de Paris et à celui de Clinique de l'Hôpital Beaujon, où MM. les Professeurs Grimbart et Achard ont bien voulu m'admettre avec leur bienveillance accoutumée, a été terminé au laboratoire des Halles Centrales de Paris, sous la direction de M. Maurice Piettre, après présentation particulière par M. l'Honorable Philippe Roy, Commissaire Général du Canada en France. Les nombreux et précieux conseils que M. Piettre m'a prodigués et qui seuls m'ont permis de mener à bien une grande partie de ces recherches m'ont été d'une grande utilité. Je tiens à l'en remercier ici chaleureusement. D'autre part j'exprime ici toute ma reconnaissance à M. le docteur Emile Feuillié, Médecin des Hôpitaux, qui sut me guider en maintes occasions et me suggérer une foule d'idées avec une cordialité dont je reste vivement touché.

Je remercie enfin, MM. les chefs de clinique : Bariéty, Debray, Hamburger, Escalier ainsi que mon ami le docteur Armand Nénot pour la célérité et l'exactitude avec lesquelles ils m'ont procuré les matériaux d'étude.

De plus, je garde le meilleur souvenir de mes camarades, Boutroux, Codounis, Lenègre, Soulié, Vacherat, Villedieu.

PLAN DE TRAVAIL

PREMIÈRE PARTIE. — *Etude de la technique.*

DEUXIÈME PARTIE. — *Comparaison avec la méthode aux sels de Howe.*

TROISIÈME PARTIE. — *Teneur en lipides des protides obtenus par la méthode de Piетtre.*

QUATRIÈME PARTIE. — *Application de la méthode de Piетtre aux :*

1° Sérums normaux.

2° Sérums pathologiques.

3° Liquides d'épanchements pleuraux et sérums correspondants.

4° Liquides d'épanchements ascitiques et sérums correspondants.

CONCLUSIONS

PREMIÈRE PARTIE

EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE LA TECHNIQUE DE LA MÉTHODE A L'ACÉTONE

A. — Technique des analyses.

Technique : Nous exposerons la technique qui nous a servi dans nos analyses, technique détaillée de la méthode à l'acétone qui n'avait été jusque-là que simplement résumée dans ses grandes lignes, dans deux publications à Rio de Janeiro dans les archives de l'Institut Vital Brazil (19 févr.-1923) et à Paris, dans une brochure intitulée *Biochimie de l'hémolyse* (1). Des précisions intéressantes qui sont développées plus loin ont été apportées sur plusieurs points, notamment sur l'extraction plus complète des lipides qui s'accrochent si fortement aux protéines, sur la séparation plus sûre de la myxoprotéine, sur la destruction des émulsions apparaissant parfois brusquement pendant les précipitations acétoniques en vue de la purification de la sérum-albumine.

Volume de sérum. — Le minimum de liquide se prêtant à cette technique peut être de 5 à 6 cmc., limite qui ne dépasse pas les possibilités de prélèvement de sang sur les malades dans les hôpitaux ; mais un volume plus élevé rend évidemment les résultats plus certains.

Dans ces analyses, nous avons opéré, toutes les fois que cela a été possible, sur 20 cmc. de sérum.

Précipitation acétonique. — Elle est obtenue par addition au sérum de deux fois et demi son volume d'acétone, purifié, passant à 56-57°.

On opère de la façon suivante pour le sérum contenu dans un bécher de 125 cmc. plongé dans de la glace bien écrasée : on fait tomber goutte à goutte mais rapidement et en agitant

constamment de l'acétone froide (50 cmc.) versée préalablement dans une ampoule à décantation maintenue par un support. Dans ces conditions toujours les mêmes, la précipitation des protéines se fait en très petits flocculats facilitant l'extraction des lipides qui passent aussitôt en grande partie en solution dans l'acétone.

On essore rapidement sur Büchner en versant d'abord la partie supérieure moins riche en précipité. On accélère l'essorage en ramenant sur les parois au fur et à mesure, à l'aide d'une spatule métallique flexible, le précipité déposé sur le fond du Büchner après écoulement de la presque totalité de la liqueur acétonique aqueuse, de nouveau bien réparti sur le filtre et égoutté à peu près complètement.

On lave à deux reprises successives, avec chaque fois de 20 à 25 cmc. d'acétone froide, le gâteau des protéines qui est malaxé sur le filtre même, et écrasé avec la spatule sur les parois du Büchner pour en faire une suspension bien homogène et on essore complètement, chaque fois. Il faut, bien entendu, avoir la précaution de maintenir le vide en obturant à l'aide de la spatule les craquelures qui apparaissent peu à peu.

On procède alors de la même façon à trois ou quatre lavages à l'éther sec, à la fois pour éliminer rapidement toute trace d'acétone et d'eau et pour compléter l'extraction des lipides. L'éther entraîne surtout les éthers de la cholestérine que l'on voit cristalliser en superbes aiguilles soyeuses, si l'on met quelques heures au froid la liqueur acétonique aqueuse à laquelle ont été joints les éthers de lavage. Pratiquement, on a intérêt à recueillir séparément ces éthers pour isoler, si l'on veut, les cholestérols et surtout pour récupérer directement ce solvant.

En prolongeant le vide après le dernier lavage à l'éther, on a finalement les protéines complètement sèches, qui, broyées, donnent une belle poudre blanche se conservant indéfiniment, et gardant la totalité des propriétés spécifiques des sérums initiaux, dans le cas des immunsérums, avantage précieux signalé déjà en 1922 par Maurice Pieltre.

Des recherches ayant montré à M. Pieltre que des traces de lipides (moins de 1/100) restent souvent accrochées à la globuline et à la myxoprotéine nous avons cru nécessaire de sou-

mettre l'ensemble des protéines sèches à une nouvelle extraction.

On pulvérise donc la poudre blanche détachée avec soin du filtre et des parois de Büchner, puis on la broie avec de l'éther sec, et cela 5 ou 6 fois de suite en filtrant chaque fois l'éther. Dans chacune de nos expériences, nous avons utilisé environ 80 à 120 cmc. d'éther.

Après distillation, les traces de lipides séparés sont joints aux autres.

Ce traitement a été fait systématiquement dans toutes les analyses qui seront transcrites.

Le point capital dans la précipitation des protéines est d'éviter, comme l'a démontré Vila, l'action coagulante de l'acétone, action thermique, en réduisant le plus possible la durée des manipulations avec l'acétone et surtout en opérant à basse température, aux environs de 0°, soit à l'aide de glace finement écrasée, soit mieux encore, dans une chambre froide comme nous l'avons pu faire au laboratoire des Halles centrales dans quelques-unes de nos expériences.

On peut aussi remplacer la filtration sur Büchner par la centrifugation.

Le sérum additionné à froid, comme plus haut, de deux fois et demi son volume d'acétone est centrifugé, aussitôt, on décante sans perte la liqueur acétonique aqueuse qui est mise à part, on lave ensuite le culot une première fois avec un mélange à parties égales d'acétone et d'éther sec, puis avec de l'éther sec pour éliminer l'acétone et les lipides. Chaque fois en malaxant dans les tubes mêmes à centrifuger, aussi bien que possible, car les protéines forment une masse pâteuse difficile à manier.

Ce procédé doit être exécuté à la chambre froide et très rapidement pour éviter l'action coagulante sur la myxoprotéine qui dès lors devient plus difficilement séparable de la sérum-globuline au moment de la floculation de cette dernière par les acides.

Floculation de la sérum-globuline. — C'est la partie de la technique de beaucoup la plus délicate.

Les protéines sèches, détachées du filtre et des parois du Büchner, sont versées dans un cristalliseur. Le filtre est lui-même déposé dans un autre cristalliseur dans lequel on ajoute

de petites quantités d'eau distillée, pour dissoudre les traces de substance qui y sont restées attachées, on décante la solution et 2 ou 3 eaux de lavages dans le premier cristalliseur.

Un volume d'eau égal au volume du sérum initial suffit à dissoudre la totalité des protéines. Au contact de l'eau distillée, on voit la matière se gonfler (quelques gouttes d'éther facilitent le contact) puis fondre et bientôt disparaître sans avoir besoin d'autre intervention que d'un peu d'agitation lorsqu'il subsiste des fragments un peu volumineux. Une fois complètement achevée, la dispersion (1) des protéines, on verse la liqueur dans une éprouvette de 30 cmc., on rince avec soin les parois du Büchner, filtre etc... et fait un volume de 30 cmc.

Cette dilution au tiers qui pourrait être encore avantageusement augmentée est en général suffisante pour la bonne floculation de la globuline.

Les essais de floculation sont pratiqués de la façon suivante : on répartit dans 6 ou 7 tubes à hémolyse, placés sur un portoir, 0 cmc. 5 par tube de la solution des protéines, puis on fait tomber dans le premier de l'acide HCl N/100 dixième par dixième et en mélangeant chaque fois jusqu'à ce que se produise un trouble uniforme. Ce trouble indique le début de la floculation de la globuline, il suffit d'ajouter dans chacun des autres tubes la même quantité d'acide, augmentée de 1/10 de cmc. d'acide en plus par tube.

Si l'on suppose que le 1^{er} tube se trouble uniformément avec 0 cmc. 5, HCl N/100, ce qui est le cas assez fréquent dans nos analyses, étant donné que toutes les dilutions de protéines sont faites au tiers, on a le schéma suivant :

I	II	III	IV	V	VI
0,5 HCl	0,6	0,7	0,8	0,9	1,
N/100	»	»	»	»	»

Dans le tube II, la floculation augmente fortement pour devenir complète dans les tubes III et IV, puis diminue en V

1. Cette dispersion est due à la présence du carbonate alcalin provenant du sérum sanguin et qui est partiellement retenu par la globuline en particulier pendant la précipitation acétonique. C'est cette alcalinité qu'il faudra saturer ensuite pour floculer la sérum-globuline.

par suite de la dispersion partielle des protéines, sous l'influence d'un léger excès d'acide, et disparaît complètement en VI.

On laisse reposer une demi-heure environ, afin que les floculats aient le temps de se déposer laissant les liquides surnageants s'éclaircir plus ou moins suivant que la précipitation a été plus ou moins complète. On est fondé à choisir comme volume d'acide celui qui correspond au tube qui a floculé le plus vite, et le plus abondamment, en général c'est un des tubes III, IV ou V.

Mais ce choix, comme l'a indiqué M. Piettre, ainsi pratiqué jusque-là, s'est révélé insuffisamment précis ; si, en effet, on fait tomber avec précaution dans les trois premiers tubes, 0 cmc. 05, HCl H/100 et dans chacun des 3 derniers 0 cmc. 05 NaOH N/100, on voit apparaître dans le liquide clair des tubes extrêmes un précipité et presque toujours dans les tubes intermédiaires une simple opalescence. Ce précipité ou cette opalescence sont dus à la présence de la globuline qui n'avait pas été floculée par insuffisance d'acide (1^{er}s tubes), ou était restée en solution par excès du même acide (derniers tubes).

Le moyen le plus sûr pour préciser la quantité d'acide strictement nécessaire pour précipiter toute la globuline serait de centrifuger et de peser chaque précipité, mais pour aller plus vite, nous avons opéré de la façon suivante : on prépare 2 ou 3 tubes contenant 0 cmc. 5 de solution protéique et on ajoute dans ces tubes des doses intermédiaires d'HCl N/100, par exemple, 0,65 0,75 0,85. Il suffira ensuite, une fois les floculats bien déposés, de chercher, comme plus haut, quel est le tube ne donnant aucune opalescence par addition d'acide ou de base N/100. Dans ce tube la floculation de la globuline aura été complète et le volume d'acide N/100 utilisé sera le volume cherché. On calcule alors la quantité d'acide N/10 qui doit être ajoutée au volume restant de la solution des protéines. Mais avant cette addition on a soin de saturer celle-ci d'éther à froid. Le mélange est rendu homogène en renversant 2 ou 3 fois l'éprouvette bien fermée par la paume de la main ; la sérum-globuline précipite abondamment. On rince les parois de l'éprouvette avec quelques centimètres cubes d'eau distillée, et on laisse au repos à la température du laboratoire quelques heures.

Par centrifugation la globuline est isolée, puis lavée deux ou

trois fois, la première eau étant jointe à la liqueur sérique. On la sèche et pèse directement, ou bien on la dissout dans un volume connu d'eau distillée avec quelques dixièmes de NaOH N/10.

Séparation de la myxoprotéine. — La liqueur débarrassée de globuline forme après addition de la première eau de lavage de celle-ci, un volume d'environ 50 cmc. et est précipitée à froid par 50 cmc. d'acétone froide. Après centrifugation, le culot est repris par 40 à 50 cmc. d'eau distillée, en ayant soin avec un agitateur de bien écraser les particules solides du précipité acétonique. L'albumine se dissout rapidement laissant un liquide rendu provisoirement trouble par de gros flocons grisâtres qui se rassemblent bientôt au fond de l'éprouvette en une masse visqueuse, gommeuse, se rétractant légèrement quand elle est exempte de globuline, comme un caillot, soit sur les bords, soit au centre de sa masse. Lorsque malgré toutes les précautions indiquées plus haut un peu de globuline a été entraînée avec la myxoprotéine, le précipité est plus blanchâtre, plus grenu, moins visqueux, présentant une surface plane du côté du liquide surnageant.

La liqueur claire est décantée sans perte ou centrifugée, puis soumise dans les mêmes conditions à une série de précipitations acétoniques jusqu'à ce qu'il ne se sépare plus de précipité après redissolution des protides.

Quatre précipitations acétoniques suffisent en général pour séparer toute la myxoprotéine lorsqu'il s'agit de sérums normaux. Certains sérums pathologiques exigent 6 ou 7 opérations successives et parfois même on n'enlève les dernières traces de myxoprotéine qu'en séchant par vide sulfurique la solution de séro-albumine et en la reprenant par l'eau distillée.

On réunit les différents précipités de myxoprotéine, les lave avec l'eau distillée, en dissociant avec l'agitateur le mieux possible la matière visqueuse qui adhère très fortement au verre. On la sèche et pèse, ou bien elle est dissoute dans NaCl à 90/00 ou dans NaOH N/10 en vue de purifications ultérieures. C'est au cours de ces précipitations acétoniques que, de temps à autre, se produisent les émulsions dont il sera question plus loin. On a beau alors centrifuger même à une grande vitesse les liqueurs acétoniques aqueuses, on n'obtient aucune séparation

ou seulement des séparations partielles. Il suffit en général de saturer progressivement d'éther et d'agiter fortement l'émulsion bien refroidie pour voir la floculation se produire plus ou moins complète. Quelquefois l'addition de traces d'HCl N/10 ou N/100 provoque la rupture de l'émulsion. Enfin il peut être avantageux d'associer les deux en commençant par la première. La présence de myxoprotéine est la cause très probable de ces accidents qui disparaissent en effet au fur et à mesure de l'élimination de cette substance.

Sérum-albumine.— La solution de sérum-albumine bien purifiée est débarrassée des petites quantités d'acétone par séchage sur vide sulfurique. La sérum-albumine est conservée à l'état de paillettes, ou bien redissoute dans l'eau, puis mise au froid.

Extrait aqueux acétonique. — Après distillation de l'éther et de l'acétone l'ensemble de l'extractif aqueux et des lipides est réuni dans une capsule en verre. On met à concentrer au bain-marie, après avoir ajouté 4 ou 5 gouttes d'une solution aqueuse d'acide acétique à 15 % pour décomposer le savon, puis on évapore à sec et pèse pour obtenir le poids total.

On enlève alors à l'éther sec les lipides qui sont pesés à leur tour.

On peut aussi reprendre l'extrait sec total par une petite quantité d'eau, enlever les lipides à l'éther, évaporer à nouveau la solution aqueuse, qui contient les sels, sucres, urée, bases azotées, etc.

L'extrait sec dégraissé après avoir été pesé est redissout dans un volume connu d'eau distillée, le plus souvent dans 20 cme. pour le dosage du chlore, par la méthode volumétrique.

B. — Examen de quelques points particuliers.

Nous insisterons sur quelques points plus particulièrement importants de la méthode de l'acétone, à savoir :

Floculation de la sérum-globuline.

Séparation de la « myxoprotéine ».

Purification de la sérum-albumine.

Emulsions au cours de ces deux dernières opérations.

1° FLOCCULATION DE LA SÉRUM-GLOBULINE.

L'exposé de la technique qui vient d'être fait a montré que l'optimum de la floculation de la globuline peut être déterminé assez exactement dans la série des essais du titrage alcalimétrique de la solution totale des protéines, en se basant sur des écarts de 0 cmc. 1 HCl N/100 par 0 cmc. 5 de cette liqueur protéinique, mais plus rigoureusement encore en réduisant ces écarts à 0,05 HCl N/100 dans la zone optima soit par addition de tubes supplémentaires que l'on intercale entre les premiers, soit par la recherche du tube dans lequel l'addition 0,05 d'HCl N/100 ou de 0,05 de NaOH N/100 ne provoque aucune trace de floculation au sein du liquide clair surnageant la globuline déjà floculée.

Cela revient à dire que si la précipitation complète de la sérum-globuline s'obtient pratiquement, elle exige des tâtonnements nombreux et délicats.

Piétte (1) a tout naturellement cherché à étudier de très près le phénomène en s'aidant de la technique physique qui bien souvent éclaire et complète la technique chimique. Il a mesuré les variations de concentrations des ions H dans les solutions de protéines sériques que l'on additionne de volumes croissants d'HCl N/100 dans les mêmes conditions qui servent, par des essais préliminaires, à déterminer la quantité d'acide provoquant la floculation optima de la globuline. Nous citerons le détail d'une de ces expériences qui nous paraissent très démonstratives.

Solution aqueuse de protéines totales à 8 gr.98 % d'extrait sec.

Les essais préliminaires de floculation de la globuline sont réalisés de la manière suivante :

Tubes à hémolyse contenant chacun 0 cc. 5 de cette solution.

1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°
0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2
On ajoute H Cl N/100	Floculation incomplète	Très bon dépôt de floculation	idem	idem	Flocula- tion in- complète	Simple trouble uniforme
Trouble uniforme Pas de flocu- lation nette						

1. Maurice Piétte. *C. R.*, t. 188, séance du 4 février 1929.

On voit que la floculation commence à peine en 1, devient abondante en 2 au point de se déposer au fond du tube, puis paraît complète dans les tubes 3, 4 et 5, le floculat se déposant plus ou moins rapidement suivant les tubes et laissant au-dessus des liquides parfaitement limpides. Dans le tube 6, l'excès d'acide a redissout ou plutôt empêché de se produire une bonne floculation, enfin en 7 cette action de l'acide s'est accentuée au point de ne permettre qu'un faible trouble uniforme.

L'optimum de floculation de la globuline s'étend donc du tube 3 au tube 6, c'est-à-dire entre les limites d'acides comprises de 0 cmc. 8 à 1 cmc. Comment choisir la quantité d'acide la plus favorable ?

Pour cela on a déterminé la valeur du pH sur les liqueurs suivantes de compositions identiques aux contenus des tubes 1, 3, 5 et 7.

	Volume de la solution protéique	H Cl N/100 ajouté	Mélange total	
1	12 cc. 5	15 cc.	27 cc. 5	Après les réactions de floculation, on cen- trifuge de façon à obten- ir des liquides les plus clairs possible avant de mesurer la concen- tration en ions hydro- gènes.
3	12 cc. 5	20 cc.	32 cc. 5	
5	12 cc. 5	25 cc.	37 cc. 5	
7	12 cc. 5	32 cc. 5	45 cc.	

L'appareil utilisé a été le dispositif de Kling et Lassieur avec électrode à lame de platine de Sørensen. Voici les chiffres obtenus par Piettre et Demigneu, les expériences étant faites au Laboratoire municipal de Paris :

	Valeur du Ph
Solution initiale des protéines totales	9,04
Liqueur 1	7,27
Liqueur 3	6,68
Liqueur 5	5,94
Liqueur 7	5,21

On voit que la solution des protéines totales est nettement alcaline (pH = 9,04), cette alcalinité, d'ailleurs variable sui-

vant les expériences, est due à l'entraînement par les protéines pendant leur précipitation acétonique, d'une partie de carbonate contenu dans le sérum sanguin, et cet entraînement mériterait d'être étudié avec soin en raison de son mécanisme sans doute plutôt physique que chimique.

La neutralité véritable est atteinte dans la solution 1 avec un pH de 7,27 et cependant la floculation de la globuline ne fait que commencer.

Il faut arriver à un pH de 6,68 pour obtenir, semble-t-il, cette précipitation, qui gardera ce caractère jusque vers pH voisin de 5,21 marquant le début de la disparition de la globuline sous l'influence d'un excès d'acide

Entre les valeurs pH 6,8 et pH 5,21, la concentration en acide ne paraît donc exercer aucune influence dans la floculation de la globuline ; d'ailleurs les courbes construites avec ces 3 points, au cours de plusieurs expériences, sont continues sans paliers ni points réguliers.

Une fois donc dans la zone acide de floculation atteinte, les additions successives d'acide se traduisent par une dissociation ionogénique progressive de HCl indiquée par la diminution régulière des valeurs du pH, mais sans influence objective sur le phénomène de floculation lui-même.

Et cette constatation vient confirmer d'autres recherches tout à fait importantes de M. Piettre (1) qui ont montré que mis en présence des protéines purifiées (sérum-globuline, sérum-albumine), les acides et les bases s'ionisent comme s'ils étaient seuls. Il ne se forme donc pas, contrairement à l'opinion de Jacques Loeb, de combinaisons entre les protéines les acides et les bases, des sels de protéines ou des protéinates de bases. Nous reproduisons la courbe de M. Piettre parce qu'elle éclaire quelque peu le phénomène de floculation de la globuline, et surtout parce qu'elle apporte des corrections nouvelles sur les propriétés générales des protéines, et peut servir de guide et d'orientation aux biologistes et aux physico-chimistes dans ce domaine encore si obscur.

On voit qu'en dehors de faibles écarts à l'origine, les courbes d'HCl seul et d'HCl ajouté à l'albumine tendent à se confondre

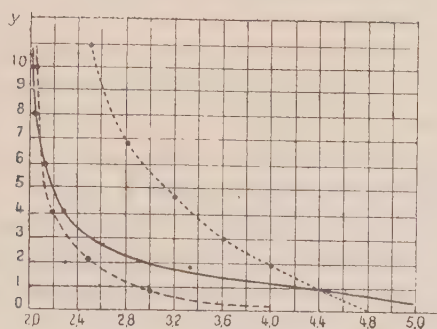
1. Maurice Piettre. *C. R.*, 186, 1928, p. 1657.

et que l'acide s'ionisé comme s'il était seul et en l'absence de toute protéine, ne formant pas, par conséquent, de combinaison avec cette protéine, de chlorhydrate d'albumine comme le voulait J. Loeb.

La méthode électrométrique n'apporte pas la précision nécessaire pour déterminer l'acidité correspondant à la complète floculation de la sérum-globuline.

Il a donc fallu chercher une technique certaine.

Déjà dans l'expérience citée plus haut, M. Piettre avait uti-



En abscisses, valeurs de pH. En ordonnées, nombre de centimètres cubes de HCl N/100 pour 100 cmc. de sérum albumine à 1 pour 100.

La température $t = 16^{\circ}$.

- - - - HCl seul aux dilutions N/1000, N/400, N/200, N/100.
- HCl + sérum albumine.
- HCl + ovalbumine (Loeb).

lisé la plus rigoureuse de toutes, qui consistait à peser les divers floculats de globulines ; c'est ainsi que les poids de ces floculats, après centrifugation, étaient respectivement de 0 gr. 3070 et de 0 gr. 3660 dans les liqueurs 3 et 5.

Cette méthode serait applicable avec grand avantage toutes les fois que l'on dispose de volume assez grand de liquide à traiter, mais presque impossible dans les expériences portant sur 20 cmc. ou moins de sérum sanguin.

Telles sont les raisons qui nous ont conduit à la technique qui nous a servi et qui est celle de l'épreuve déjà décrite de floculation préliminaire, mais *épreuve rectifiée*, permettant dans

la série des tubes floculés de préciser par tâtonnements à l'acide HCl ou à NaOH N/100, celui où il n'y a ni excès d'acide ni excès de base, c'est-à-dire celui dans lequel une trace soit d'acide ou de base ne provoquera plus aucun trouble même extrêmement léger.

II. — SÉPARATION DE LA MYXOPROTÉINE.

La séparation de la myxoprotéine dépend de la complète élimination de globuline.

En effet un excès, même très léger, d'acide ou de base au moment de la précipitation de la globuline entraîne une dispersion partielle de cette protéine et la fraction ainsi passée en solution se retrouvera désormais mélangée à la liqueur contenant à la fois albumine et myxoprotéine.

Comme on le sait la précipitation acétonique à froid (volume égal) de la solution aqueuse albumine-myxoprotéine, suivie de centrifugation, puis reprise à l'eau, en éliminant le NaCl provoque la séparation d'une grande partie de la myxoprotéine. Mais pour rompre complètement l'adhésion entre ces deux substances, il faut des précipitations acétoniques répétées, suivies d'autant de reprises par l'eau distillée. Dans le traitement de certains immunsérums ces opérations doivent être renouvelées jusqu'à 7 fois (Piettre).

Le précipité de myxoprotéine quand il est pur se reconnaît facilement aux caractères déjà indiqués, en particulier à son aspect grisâtre, demi-transparent et surtout à sa rétraction avec expulsion de sérosité et augmentation de sa consistance. Au contraire, quand la myxo est souillée de globuline, la masse est plus grenue, elle ne se rétracte pas, sa surface reste plane, sa coloration est plus blanche, enfin si on agite avec de l'eau distillée, on obtient une suspension partielle de la globuline entraînée.

La séparation de ces deux protéines une fois mélangées n'a pu être jusque-là réalisée d'une façon satisfaisante.

Sans doute la myxoprotéine est soluble dans NaCl à 9/1000 en particulier, tandis que la globuline y est insoluble ; mais lorsque les deux substances se trouvent mêlées, en milieu salin, on

constate un entraînement de la globuline dans la myxoprotéine dispersée.

Le problème se ramène donc tout entier à la complète floculation du premier coup de la globuline, au moyen des acides, dans la première phase de la méthode à l'acétone. Dans la pratique, comme le démontrent malheureusement nos analyses, on le résout difficilement, quelque précaution que l'on prenne, sinon avec les sérums normaux, tout au moins avec les sérums pathologiques. Une étude plus approfondie de la nature chimique de la myxoprotéine conduira sans doute à une technique plus rigoureuse.

III. — PURIFICATION DE LA SÉRUM-ALBUMINE.

Elle est réalisée en soumettant la solution d'albumine à des précipitations acétoniques à froid en nombre convenable pour éliminer la totalité de la myxoprotéine. Quand il s'agit de sérums normaux trois ou quatre précipitations sont suffisantes ; au contraire, pour les sérums pathologiques ou les immun-sérums il est nécessaire d'insister sans impatience jusqu'à 7 et 8 fois.

La serum-albumine totalement débarrassée de myxoprotéine, contient de petites quantités d'acétone retenues pendant la dernière précipitation acétonique, et qu'il faut éliminer, si l'on veut procéder à des mesures physiques (pression osmotique, abaissement cryoscopique, etc.) ou à des expériences se rapportant à la bactériologie surtout.

Pour cela il suffit d'évaporer à sec sur vide sulfurique la solution parfaitement limpide d'albumine. On obtient de belles écailles très légèrement rosées ou blondes qui se dissolvent dans l'eau pure sans laisser d'insoluble.

IV. — ÉMULSIONS.

Au cours de nos expériences, nous avons été assez fréquemment arrêtés par l'apparition d'émulsions extrêmement tenaces au cours des précipitations acétoniques de serum-albumine en vue de l'élimination de la myxoprotéine.

On a donc des liqueurs acétoniques aqueuses tenant en suspension stable albumine et myxoprotéine.

Ces émulsions laiteuses se produisent sans raisons apparentes et au moment où l'on s'y attend le moins. Elles présentent une opalescence plus ou moins grande suivant les quantités de matières solides mises en jeu.

Elles sont ou totales ou partielles. Dans ce dernier cas, une partie des substances seulement est en suspension, l'autre se sépare comme d'habitude sous forme de gros flocons blancs, par centrifugation.

Plusieurs moyens ont été essayés pour rompre ces émulsions : l'addition d'éther à la liqueur acétonique aqueuse suivie d'une agitation vive et prolongée complétée par l'action du froid, ou bien l'addition de traces de HCl N/10 ou N/100, enfin la conjugaison de ces deux procédés : augmentation des ions H libres (par addition d'acide) et action de l'éther. Pour M. Piettre, cette dernière technique est la plus sûre et d'application très générale, car elle conviendrait aussi dans presque toutes les manipulations de liquides contenant des substances minérales et organiques surtout, à grosse molécule, en solution dispersée sous la forme de micelles ou en suspension à l'état d'agréats extrêmement petits.

Quelle est la cause de ces émulsions ? Il ne semble pas qu'il s'agisse de lipides en raison de l'extraction très poussée de ces corps soit à l'acétone, puis à l'éther sec et enfin de nouveau à l'éther sec sur la poudre bien sèche des protéines, et aussi parce que la grande abondance d'acétone dans les liquides émulsionnés suffirait amplement pour mettre en dissolution parfaite les substances lipoïdiques. D'ailleurs, la recherche des lipides dans l'acétone ou dans l'éther après destruction des émulsions n'a pas décelé la présence de ces matières en proportion appréciable, tandis qu'elle permet toujours d'isoler à côté de la sérum-albumine la présence de myxoprotéine. Dans une expérience en particulier (p. 49) l'émulsion s'est renouvelée 4 fois, c'est-à-dire jusqu'à l'élimination complète de la myxoprotéine.

Et c'est encore là, d'après Piettre, un caractère fort intéressant de la myxoprotéine, de provoquer dans les liquides de faciles émulsions, de s'accrocher avec tenacité aux substances

protéiques pour augmenter leurs propriétés colloïdales. Des recherches physico-chimiques dans cette voie, pourraient être extrêmement fécondes pour expliquer bien des phénomènes biologiques (émulsions, suspensions colloïdales, etc.).

*Adaptation de la technique au traitement
des épanchements pleuraux, ascitiques.*

Epanchements pleuraux.— La totalité des liquides pleuraux qui nous ont été fournis de l'hôpital Beaujon par M. le professeur Achard présentaient les caractères très nets d'exsudats inflammatoires, c'est-à-dire de liquides dérivés directement de la filtration du liquide plasmatique sanguin, et par conséquent ayant une composition voisine de celle-ci.

Leur teneur en substances sèches oscillait entre 3,27 et 7,76 %.

Un seul était pauvre en extrait sec.

Ces liquides donnaient le plus souvent au repos de faibles caillots fibrineux, ou plutôt des filaments, des voiles ou lames fibrineux, qui isolés du liquide, puis lavés à l'eau distillée ont été pesés.

Dans quelques-uns, ne rencontrant aucune trace de fibrine concrète, on retrouvait cependant après la précipitation acétonique des protéines totales, des flocons peu volumineux, pouvant être rapportés par leurs caractères physiques, leur insolubilité dans l'eau pure soit au fibrinogène, soit aux matières fibrineuses en dérivant.

On a pu appliquer à tous ces exsudats la même technique qu'au sérum sanguin lui-même.

Les exsudats ascitiques ont présenté, par contre, de grosses difficultés, en raison de leur teneur très faible en protéines. La plupart, sauf un ayant un extrait sec total de 32 %, avaient les caractères des transudats vrais, donc très riches en eau, en extractif minéral et organique et très pauvres en matières protéiques.

La méthode à l'acétone n'a pu être appliquée directement qu'à un seul échantillon, précisément celui dont l'extrait sec était le plus élevé.

Pour tous les autres, il a fallu chercher une adaptation satisfaisante.

M. Piettre nous a aidé à résoudre le problème en recourant à la concentration sur vide sulfurique, au degré voulu ou mieux jusqu'à dessiccation complète.

Il suffit de reprendre le résidu par un volume d'eau distillée calculé à l'avance.

Dans ces expériences, nous avons réalisé des concentrations voisines de 40 % d'extrait sec. Ici aussi on isole soit directement dans le liquide initial de petites quantités de fibrine, soit après précipitation acétonique des flocons insolubles de nature fibrineuse.

DEUXIÈME PARTIE

COMPARAISON AVEC LA MÉTHODE AUX SELS DE HOWE

Avant d'appliquer la méthode à l'acétone, ainsi mise au point, nous avons cru devoir comparer les résultats obtenus avec ceux de la méthode aux sels qui paraît le plus en faveur à l'heure actuelle, pour savoir dans quelle mesure nos chiffres peuvent être comparés à ceux qui sont publiés par ces dernières méthodes.

Nous avons utilisé la méthode aux sels employée par Messieurs Achard, Grigaut, Codounis et Boutroux (1) d'après Paul Howe (2).

o cmc. 5 de sérum sont additionnés de 15 cmc. d'une solution de sulfate de soude anhydre à 22 gr. 20 % à la température de 37°.

Les 15 cmc. 5 ainsi obtenus sont placés dans un vase clos, additionnés d'un cristal de thymol et maintenus à l'étuve à 37° pendant au moins 3 heures. Le précipité de globuline formé est séparé sur un filtre en verre poreux d'Iéna Schott.

On procède au dosage azotométrique par la méthode de Pregl, sur 5 cmc. du filtrat.

Avec le chiffre d'azote obtenu, on calcule le taux de la sérine en multipliant par le coefficient 6,55.

La détermination de la globuline est faite par différence entre l'azote total du sérum (toujours par la méthode de Pregl) et celui de la sérine fournie par le dosage précédent, en multipliant par le coefficient 6,95, de Piettre et Vila.

Le chiffre de protéines totales a été obtenu par simple addition des chiffres de la sérine et de la globuline.

1. *Bulletin de l'Académie de Médecine*, 11 juin 1921, p. 93.

2. Paul Howe, *Journal of Biological chemistry*, 1922.

Sérums normaux traités à la fois par la méthode aux sels et par la méthode à l'acétone.

Résultats pour 100 cc. de sérum.

		Globuline	Myxo-protéine	Sérum	Somme	Protéines totales	Rapports globuline sur sérum	Rapports globuline + myxo-protéine sur sérum
Cheval n° 1	{ M. aux sels ...	3,203	—	4,326	7,529	7,529	0,740	—
	{ M. à l'acétone	3,072	0,426	4,093	7,591	7,624	0,750	0,854
Cheval n° 2	{ M. aux sels ...	3,166	—	4,218	7,384	7,384	0,750	—
	{ M. à l'acétone..	2,932	0,418	3,909	7,259	7,319	0,750	0,854
Cheval n° 3	{ M. aux sels ...	3,625	—	4,224	7,849	7,849	0,858	—
	{ M. à l'acétone ..	3,055	0,614	4,112	7,781	8,001	0,742	0,892
Bœuf n° 1.....	{ M. aux sels ...	3,242	—	4,048	7,29	7,29	0,800	—
	{ M. à l'acétone	2,992	0,730	3,506	7,228	7,355	0,853	1,061
Bœuf n° 2.....	{ M. aux sels ...	3,544	—	4,009	7,553	7,553	0,884	—
	{ M. à l'acétone..	3,092	0,757	3,579	7,408	7,578	0,863	1,069
Bœuf n° 3.....	{ M. aux sels....	3,427	—	4,372	7,998	7,998	0,788	—
	{ M. à l'acétone..	3,20	0,69	3,936	7,826	7,903	0,813	0,988

Sérums pathologiques traités à la fois par la méthode aux sels
et par la méthode à l'acétone.

Résultats pour 100 cc. de sérum.

	Globuline	Myxo- protéines	Sérine	Somme	Protéines totales	Rapports globuline sur sérine	Rapports globuline + myxo- protéine sur sérine
Cas de paralysie générale (Dr Feuillié)							
{ M. aux sels ...	4,718	—	3,28	7,998	7,998	1,438	—
{ M. à l'acétone..	3,623	0,917	3,434	7,974	8,056	1,055	1,322
Cas de pneumonie (Dr Feuillié)							
{ M. aux sels ...	4,666	—	3,451	8,117	8,117	1,364	—
{ M. à l'acétone..	3,702	0,844	3,602	8,148	8,251	1,027	1,262
Cas de syphilis en évolut. B.-W. positif (Dr Feuillié)							
{ M. aux sels ...	4,291	—	2,918	7,209	7,209	1,470	—
{ M. à l'acétone..	3,524	0,772	3,037	7,323	7,419	1,160	1,414

Nous n'avons pas tenu compte de l'azote non protéique (0, 24/1.000, Grigaut et Thiery).

Si nous considérons les sérums normaux, on voit qu'aux erreurs d'expérience près, les teneurs globales en protides obtenues par les 2 méthodes sont toutes fort comparables ; par contre les chiffres obtenus aussi bien pour la sérine que pour la globuline sont tous un peu plus faibles par la méthode à l'acétone, de sorte que les rapports $\frac{\text{Globuline}}{\text{Sérine}}$ restent à peu près de même valeur dans les 2 cas.

Tout se passe comme si dans la méthode de Howe, la myxoprotéine se répartissait entre la sérine et la globuline. Si selon les idées de Piettre on compte la myxoprotéine avec la globuline, la valeur du rapport s'en trouve relevée.

Pour les sérums pathologiques, on constate de même une bonne concordance pour l'albumine globale, mais par contre le taux de la globuline dans la méthode à l'acétone est nettement plus bas que dans la méthode aux sels.

Il en résulte que, pour rendre les rapports $\frac{\text{Globuline}}{\text{Sérine}}$ comparables dans les 2 cas, il est nécessaire de compter les myxoprotéines comme globulines.

Dans ce cas la méthode aux sels entraînerait toute la myxoprotéine par le sulfate de soude. Il y aurait donc là une confirmation des vues de Piettre.

C'est pourquoi dans la 4^e partie, nous considérons surtout le rapport $\frac{\text{Globuline} + \text{Myxo-protéine}}{\text{Sérine}}$.

TROISIÈME PARTIE

RECHERCHES COMPLÉMENTAIRES SUR LES LIPIDES ACCOMPAGNANT LES PROTÉINES

L'exposé de la méthode à l'acétone a montré que l'extraction des lipides accompagnant les protéines totales était conduite avec grand soin puisque les protéines sont épuisées à plusieurs reprises à l'acétone, puis à l'éther sec.

Mais dans nos expériences nous l'avons poussé encore plus loin, soumettant chaque fois la poudre blanche représentant l'ensemble des protéines sériques, à de nouvelles extractions à l'éther sec, favorisées par un fin broyage au mortier. Et cependant, M. Pieltre, épuisant encore au Soxlet, à l'aide d'éther et d'acétone, et pendant plusieurs heures de chauffe au bain-marie, des échantillons de globuline et de myxoprotéine, a obtenu de petites quantités de lipides (pages 38 et 39).

Sur les indications de M. Fleury nous avons donc réalisé quelques expériences, soumettant le bloc des protéines à l'épuisement prolongé au Kumagava.

Il nous a paru plus rigoureux de partir, non pas comme on le fait d'habitude, d'un volume donné de sérum que l'on précipite par l'alcool pour l'épuiser ensuite (Kiengz), mais plutôt des protéines déjà extraites par notre technique. Dans le premier cas, en effet, les matières sont séchées, durcies, racornies, tandis que dans le second elles sont à l'état de poudre pouvant être rendue impalpable, et sur laquelle par conséquent, l'action des solvants organiques est aisée, plus rapide et plus complète.

Nous résumons les quatre expériences réalisées sur 20 cmc. chaque fois, de sérum.

Sérum humain normal. — Les protéines ont été précipitées

par 50 cmc. d'acétone, lavées 2 fois avec un volume d'acétone, puis avec 3 volumes d'éther sec, enfin broyées et lavées avec 5 volumes d'éther sec, au mortier.

On a recueilli séparément les lipides qui ont été pesés à part.

Lipides (extraction acétonique).....	3,45	% ₀₀ de sérum
Lipides (lavages éthers).....	0,76	% ₀₀ —
Lipides (broyages et lavages éthers) .	0,245	% ₀₀ —
Total		

Les protéines ont été alors épuisées 6 heures à l'éther, puis 12 heures à l'alcool absolu (Kumagava).

Lipides enlevés par l'éther	traces
Lipides enlevés par l'alcool.....	1,44 % ₀₀ de sérum
Total	5,913 % ₀₀ —

Sérum bœuf normal :

Lipides (extraction acétonique).....	1,88	% ₀₀ de sérum
Lipides (lavages éthers)	0,39	% ₀₀ —
Lipides (broyages et lavages éthers) .	0,075	% ₀₀ —
Total		

Les protéines sont épuisées 8 heures à l'éther et 8 heures à l'alcool absolu (Kumagava).

Lipides enlevés à l'éther.....	0,035	% ₀₀ de sérum
Lipides enlevés à l'alcool.....	1,165	% ₀₀ —
Total	3,56	% ₀₀ —

SÉRUM BŒUF NORMAL

Lipides (extraction acétonique).....	2,19	% ₀₀ de sérum
Lipides (lavages éthers).....	0,06	% ₀₀ —
Lipides (broyages et lavages éthers) .	Néant	

Les protéines sont épuisées 12 heures à l'alcool absolu (Kumagava).

Lipides extraits.....	1,60	% ₀₀ de sérum
Total.....	3,90	% ₀₀ —

Nous ferons remarquer que les trois extraits à l'alcool se sont nettement colorés en jaune d'or, en raison de la présence de *bilirubine*, plus abondante avec le sérum de bœuf.

Dans les deux derniers cas, (sérum bœuf) en reprenant les

lipides par du chloroforme et en laissant évaporer très lentement ce solvant, on a obtenu de petits amas rouge orangé de beaux cristaux de bilirubine.

SÉRUM CHEVAL NORMAL PRESQUE INCOLORE

Lipides (extraction acétonique).....	2,80 ‰ de sérum
Lipides (lavages éthers).....	0,095 ‰ —
Lipides (broyages et lavages éthers).	Néant

On épuise à l'alcool absolu, pendant 12 heures (Kumagava) :

Lipides extraits.....	0,190 ‰ de sérum
Absence de bilirubine :	
Total.....	3,08 ‰ —

Dans toutes ces expériences, outre les lipides, la bilirubine, on isole de très petites quantités de chlorure de sodium qui ont été dosées.

Sérum humain NaCl	0,523 ‰ de sérum
Sérum bœuf NaCl	0,48 ‰ —
Sérum bœuf NaCl.....	0,555 ‰ —
Sérum cheval NaCl.....	0,525 ‰ —

Il résulte de ces recherches que pratiquement la majorité des lipides est enlevée, dans la technique que nous avons employée.

Le dosage du phosphore a été fait sur les deux derniers extraits réunis (Kumagava). Il a donné 0,0193 d'anhydride phospho-molybdique.

D'où phosphore % de ces lipides..... 0,527

Il s'agit donc encore d'un mélange de lipides où dominent les stérols.

Si on calcule la proportion des lécithines en supposant qu'il s'agit surtout de distéarilécithine on trouve que pour 100 gr. de lipides extraits au Kumagava, il y a environ 13 gr. 66 de lécithine de ce type.

Le fait principal qui ressort de ces quelques dosages c'est que si les protides obtenues dans la méthode de Piettre ne sont pas rigoureusement exemptes de lipides, leur teneur en celles-ci n'est pas suffisante pour amener des erreurs notables.

QUATRIÈME PARTIE

RECHERCHES ANALYTIQUES SUR LES PROTIDES DES SÉRUMS NORMAUX ET PATHOLOGIQUES

Nous laisserons de côté les premières expériences qui nous ont permis de nous familiariser peu à peu avec la méthode à l'acétone, dont l'emploi demande un certain entraînement.

C'est ainsi que dans les sérums pathologiques surtout, la séparation complète de la myxoprotéine d'avec la globuline nous a paru imparfaite le plus souvent.

Aussi, nous avons cru prudent, en attendant sur ce point des recherches plus précises, d'indiquer dans ces cas qu'il s'agissait de mélange des deux protéines, alors que la dissolution du mélange dans l'eau salée à 9/1000 nous indiquait la présence d'une faible proportion seulement de globuline.

Nous transcrivons donc nos analyses dans l'ordre suivant :

Sérums normaux (homme, cheval, bœuf, chien).

Sérums pathologiques (homme).

Liquides d'épanchements pleuraux et les sérums correspondants.

Liquides d'épanchements ascitiques et les sérums correspondants.

Dans chacune de ces séries, nous donnons d'abord, à titre d'exemple, les opérations détaillées pour un ou deux cas. Nos résultats sont ensuite groupés par tableaux.

Les deux premiers tableaux sont destinés à mettre en évidence la valeur des pertes subies au cours des manipulations.

Nous groupons ensuite dans un 3^e tableau, nos résultats bruts : teneur en sérine, globuline et myxoprotéine avec les rapports $\frac{G}{S}$ et $\frac{G + M}{S}$. Nous y joignons la valeur de l'extrait acétonique et de l'extrait éthéré.

Dans ce but, d'une part nous comparons le pourcentage des protéines totales données directement par la pesée du gâteau des protides, avec celui que l'on peut calculer par différence, entre l'extrait sec du sérum et l'extrait acétonique (évaporation du liquide acétonique, après séparation des protides).

D'autre part, nous comparons ce même pourcentage des protéines totales (pesée du gâteau) avec la somme des protides fractionnés (sérine, globuline, myxoprotéine).

CHAPITRE PREMIER

SÉRUMS NORMAUX

Dans un but de comparaison, nos analyses ont porté non seulement sur l'homme, mais sur des animaux : cheval, chien, cobaye, bœuf. Voir nos résultats groupés en 3 tableaux et établissant la valeur de la méthode, le 3^e permettant les comparaisons.

Opération détaillée.

Sérum de chien (op. n° 7).

Volume de sérum mis en œuvre : 20 cmc.

Teneur en matière sèche sur 2 cmc. : 0,1676..... 8,38 %

Précipitation acétonique. — Acétone pour précipiter : 50 cmc.

2 lavages à l'acétone : 43 cmc.

5 lavages à l'éther : 80 cmc.

Protéines reprises par 20 cmc. d'eau, étendus à 30 cmc.

Essai de floculation sur 3 cmc. répartis en 6 tubes à hémolyse.

Optimum *rectifié* de floculation avec 0 cmc. 8 HCl N/100 et pour 1 cmc. : 1,6 HCl N/100.

Restent $27 \times 1,6 = 43,20$ H Cl N/100 : 4,32 HCl N/10.

Saturation à l'éther, addition de 4,32 HCl N/10 et 15 cmc. d'eau.

Le contenu des 6 tubes après floculation est séché :

0,1435 ce qui donne comme protéines totales..... 7,175 %

Sérum-globuline. — Centrifugée, lavée, séchée :

0,0505 1,946 %

Myxoprotéine. — Liquide sérique précipité à froid par son volume d'acétone (55 cmc.).

On a une émulsion qui est rompue par addition de 5 cmc. d'éther et vive agitation à basse température.

La myxoprotéine séparée, est lavée et séchée :

0,1283..... 0,713 %

Sérum-albumine. — Purifiée par précipitation acétonique et reprise par 40 cmc. d'eau distillée.

Sec sur 2 cmc. : 0,0380..... 4,222 %

Extrait sec acétonique aqueux dégraissé. — On

pèse : 0,1790..... 0,895 %

Lipides. — On pèse 0,0410..... 0,215 %

NaCl. — L'extrait aqueux dégraissé est repris par 20 cmc. d'eau distillée.

Titrage de NaCl sur 5 cmc. : 4 cmc. 3 AgN O³N/10.

NaCl : 0,0251..... 0,50 %

Composition pour cent.

Extrait sec total.....	8,38
Protéines totales.....	7,175
Sérum-globuline.....	1,946
Myxoprotéine pure.....	0,713
Sérum-albumine.....	4,222
Extrait acétonique aqueux dégraissé.....	0,895 — NaCl = 0,50
Lipides.....	0,205
Rapport globuline sur sérine.....	0,46
Rapport globuline + myxoprotéine sur sérine.....	0,629

TABLEAU I : COMPARAISON DES PROTIDES GLOBALES PESÉS ET DES PROTIDES CALCULÉS A PARTIR DE L'EXTRAIT SEC TOTAL.

Résultats pour 100 cm ³ de sérum.									
N ^o de l'opération	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Protéines totales	8,425	7,805	6,852	7,50	7,525	8,025	7,175	6,625	7,10
2. Filtrat acétonique desséché et pesé	1,168	1,232	1,336	1,032	0,995	0,919	1,100	1,098	1,154
3. Somme de 1 + 2	9,293	9,037	8,288	8,532	8,52	8,944	8,275	7,723	8,254
4. Extrait sec total	9,62	9,16	8,93	8,87	8,89	9,225	8,38	7,725	8,42
5. Différences	0,327	0,143	0,652	0,338	0,370	0,281	1,105	0,002	0,166
6. Différences %	3,3	1,5	7,4	3,8	4,1	3,4	4,2	0,02	1,9

TABLEAU II : COMPARAISON DES PROTÉINES TOTALES AVEC LA SOMME DES DIVERSES FRACTIONS

Résultats pour 100 cm ³ de sérum.									
N° de l'opération	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Protéines totales	8,425	7,805	6,852	7,50	7,525	8,025	7,475	6,625	7,10
1. Sérums-globuline	3,356	3,279	2,73	3,244	3,567	2,90	4,946	4,90	3,19
2. Mélange de globuline et de myxo-protéine	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. Myxo-protéine pure	4,422	0,79	0,32	0,33	0,467	4,159	0,713	0,351	0,683
4. Sérums-albumine	3,416	3,681	3,65	3,608	3,35	3,683	4,222	4,133	3,07
5. Somme de 1 + 2 + 3 + 4	7,894	7,75	6,70	7,449	7,384	7,742	6,881	6,384	6,943
6. Protéines pesées globalement	8,425	7,805	6,852	7,50	7,525	8,025	7,175	6,625	7,10
7. Différences 5-6	0,234	0,055	0,452	0,351	0,444	0,283	0,294	0,241	0,157
Différences %	2,8	0,7	2,2	4,6	4,8	3,4	4,1	3,6	2,2

TABLEAU III : ANALYSE COMPLÈTE.

Résultats pour 100 cm³ de sérum.

N° de l'opération, cas et volume mis en œuvre...	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Homme 20 cc.	Homme 20 cc.	Homme 93 cc.	Cheval 20 cc.	Même sérum de cheval exposé durant 6 heures aux rayons ultra-violet 20 cc.	Cheval 20 cc.	Chien 20 cc.	Cobaye 20 cc.	Beuf 20 cc.
	1 cc. 4 H Cl N/100	1 cc. 4 H Cl N/100	1 cc. 7 H Cl N/100	1 cc. 6 H Cl N/100	1 cc. 6 H Cl N/100	1 cc. 6 H Cl N/100	1 cc. 6 H Cl N/100	1 cc. 5 H Cl N/100	1 cc. 7 H Cl N/100
Optimum rectifié de flocculation p. 1 cc. de liqueur protéique....	8,425 3,356 1,422 3,446 0,982	7,80 3,279 0,79 3,681 0,890	6,852 2,73 0,32 3,65 0,747	7,50 3,241 0,33 3,608 0,889	7,525 3,567 0,467 3,35 1,064	8,025 2,90 1,159 3,683 0,795	7,475 1,946 0,713 4,222 0,460	6,625 1,90 0,351 4,133 0,459	7,40 3,49 0,683 3,07 1,039
Protéines totales									
Sérum-globuline									
Myxo-protéine									
Sérum-albumin									
Rapports globuline sur sérine									
Rapports globuline + myxo-pro- téine sur sérine	1,340	1,105	0,835	0,981	1,204	1,102	0,629	0,544	1,359
Extrait acétonique aqueux dé- graissé	0,736	0,704	0,676	0,667	0,624	0,545	0,895	0,871	0,752
Lipides	0,452	0,528	0,76	0,365	0,371	0,374	0,205	0,227	0,402

En ce qui concerne le bilan de nos analyses, on voit que les opérations ne se font pas sans pertes, d'ailleurs assez variables.

En ce qui concerne les protéines globales (tableau I) on peut noter (sauf un cas très favorable, opération 8) des pertes variant de 0,105 à 0,652 soit de 1,2 à 7,4 %.

Pour les pertes au cours du fractionnement (tableau II) elles sont ici du même ordre de grandeur.

Les protéines totales varient chez l'homme de 6,85 à 8,12 % de sérum, chez le cheval, nous avons trouvé de 7,15 à 8,00, le chien 7,17, le cobaye 6,02, le bœuf 7,1.

Les rapports $\frac{G}{S}$ et surtout $\frac{\text{globuline} + \text{myxoprotéine}}{\text{sérine}}$ s'établissent aux alentours de 1, sauf pour le chien et le cobaye où ces rapports sont nettement inférieurs à l'unité, manifestant l'abondance relative de la sérum-albumine.

Nos chiffres ne sont pas assez nombreux pour que nous puissions en tirer une valeur moyenne, ce sont de simples documents.

CHAPITRE II

SÉRUMS PATHOLOGIQUES

Nos analyses ont porté sur des sujets atteints des affections les plus diverses, dans un but de simple orientation ; et là encore, elles constituent des documents destinés à servir de bases pour des recherches ultérieures.

C'est pourquoi, nous nous sommes contentés de donner en titre de chaque colonne, une très brève indication sur la nature de la maladie.

1^{er} Exemple : Détails de l'opération n° 19 Dr Debray Hôpital Beaujon

Volume de sérum mis en œuvre : 20 cmc.

Teneur en matière sèche sur 2 cmc. : 2,1719..... 8,595 %.

Précipitation acétonique. — Acétone pour précipiter : 50 cmc.

2 lavages à l'acétone : 56 cmc.

5 lavages à l'éther : 80 cmc.

Protéine reprise par 20 cmc. d'eau étendus à 30 cmc.

Essai de floculation sur 3 cmc. répartis en 6 tubes à hémolyse.

Optimum *rectifié* de floculation avec 0 cmc. 85 HCl N/100 et pour 1 cmc. : 1 cmc. 7 HCl N/100.

Restent 17 cmc. $\times 1,7 = 45,90$ HCl N/100 = 4,59 HCl N/10.

Saturation à l'éther, addition de 4,59 HCl N/10 et de 14 cmc. d'eau.

Le contenu des 6 tubes après floculation est séché :

0,1422 ce qui donne comme protéines totales..... 7,11 %.

Sérum-globuline. — Centrifugée, lavée 2 fois avec 51 cmc. d'eau distillée et séchée : 0,2437..... 1,353 %

Myxoprotéine. — La liqueur sérique (38 cmc.) est précipitée par son volume d'acétone froide. Myxoprotéine mélangée de globuline lavée et séchée = 0,1728. 0,96 %

Traces de myxoprotéine après une 2^e précipitation acétonique.

Sérum-albumine. — Purifiée par précipitation acétonique et reprise par 30 cmc. d'eau distillée. Sec sur 2 cmc. = 0,0562..... 4,683 %

Extrait sec acétonique aqueux dégraissé. — On pèse 0,1160..... 0,58 %

Lipides. — On pèse 0,1260..... 0,63 %

Na Cl. — L'extrait aqueux dégraissé est repris par 20 cmc. d'eau distillée.

Titrage de NaCl sur 5 cmc. = 4 cmc. 4 AgNO 3 N/10.

NaCl = 0,0257..... 0,514 %

Composition pour cent.

Extrait sec total.....	8,595
Protéines totales.....	7,11
Sérum-globuline.....	1,353
Myxoprotéine mélangée de globuline.....	0,96
Sérum-albumine.....	4,683
Extrait acétonique aqueux dégraissé.....	0,58. — NaCl = 0,514
Lipides.....	0,63
Rapport globuline sur sérine.....	0,288
Rapport globuline + myxoprotéine sur sérine.	0,493

2^e Exemple: Détails de l'opération n° 23. Otite hôpital Beaujon (D^r Debray).

Volume de sérum mis en œuvre : 20 cmc.

Teneur en matière sèche sur 2 cmc. : 0,1915..... 9,725 %

Précipitation acétonique. — Acétone pour précipiter : 50 cmc.

2 lavages à l'acétone : 54 cmc.

5 lavages à l'éther : 81 cmc.

Protéines reprises par 20 cmc. d'eau, étendus à 30 cmc.

Essai de floculation sur 3 cmc. répartis en 6 tubes à hémolyse.

Optimum *rectifié* de floculation avec 0 cme. 8 HCl. N/100 et pour 1 cme. : 1 cme. 6 HCl N/100.

Restent 27 cme. $\times 1,6 = 43,20$ H Cl N/100 : 4,32 HCl N/10.

Saturation à l'éther, addition de 4,32 HCl N/10 et de 15 cme. d'eau.

Le contenu des 6 tubes après floculation est séché :

0,1667 8,335

Sérum-globuline. — Centrifugée, lavée 2 fois avec 34 cme. d'eau distillée et séchée : 0,3075 1,537 %

Myxoprotéine. — La liqueur sérique (39 cme). est précipitée à froid par son volume d'acétone.

Myxoprotéine mélangée de globuline lavée, séchée :

0,3042 1,52 %

Une 2^e précipitation 'acétonique donne lieu à une émulsion défaite par addition de 6 cme. d'éther.

On a ensuite une seconde émulsion défaite par addition de 10 cme. d'éther, puis une 3^e émulsion détruite par 14 cme. d'éther à froid. Enfin une dernière émulsion défaite en saturant à froid par de l'éther (20 cme.).

On pèse les quatre quantités de myxoprotéine :

0,0500	}	0,0701.....	0,389 %
0,0061			
0,0030			
0,0110			

Sérum-albumine. — Purifiée par précipitation acétonique sans nouvelle émulsion et reprise par 30 cme. d'eau distillée.

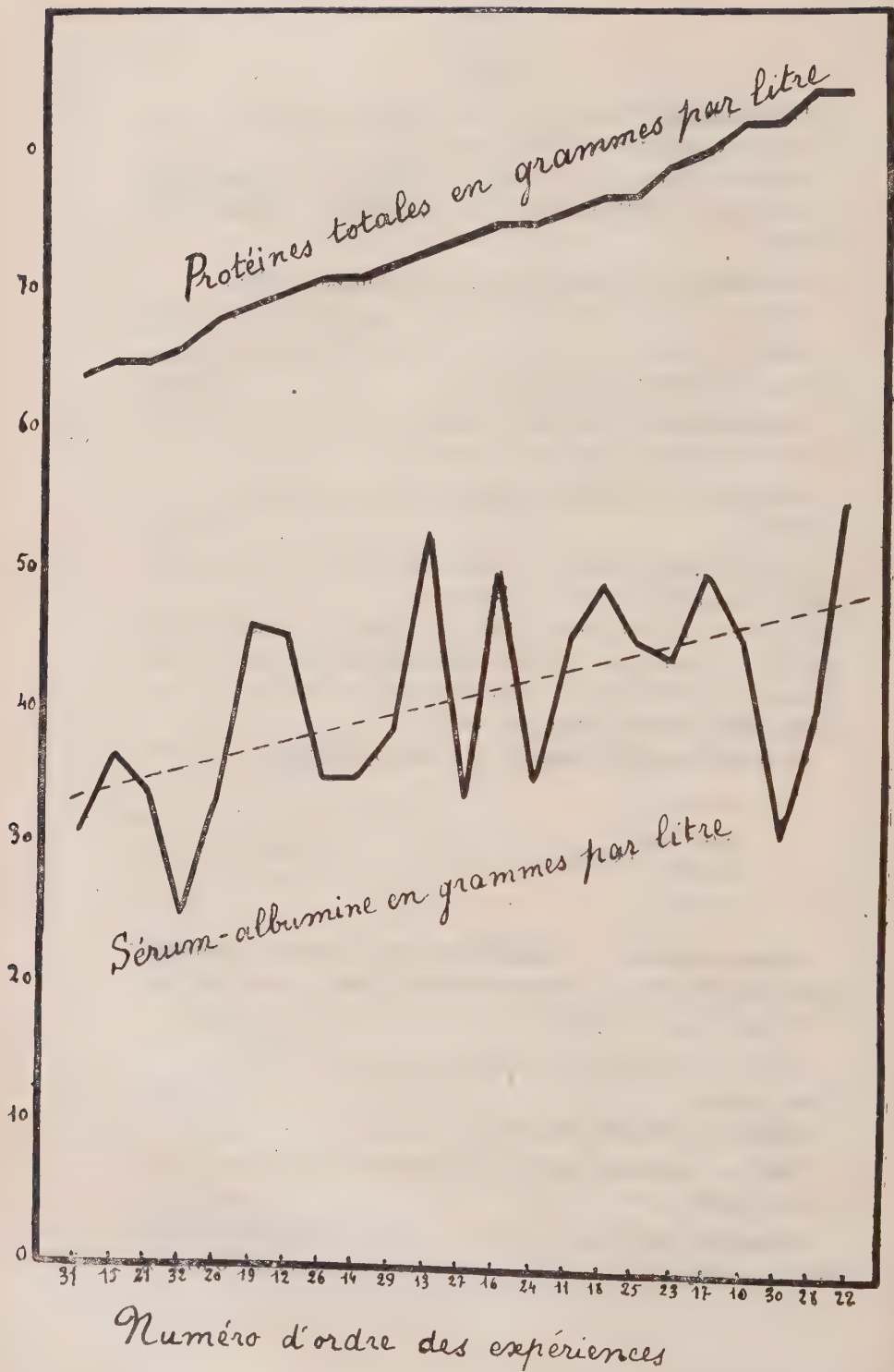
Sec sur 2 cme. : 0,0538 4,483 %

Extrait acétonique sec aqueux dégraissé. — On pèse : 0,1420 0,71 %

Lipides. — On pèse : 0,1260 0,63 %

NaCl. — L'extrait aqueux dégraissé est repris par 20 cme. d'eau distillée.

Titrage de NaCl sur 5 cme. : 4 cme. 4 de AgNo³ N/10
NaCl : 0,0257 0,514 %



COMPOSITION POUR CENT

Extrait sec total.....	9,725
Protéines totales.....	8,335
Sérum globuline.....	1,537
Myxoprotéine mélangée de globuline.....	1,52
Myxoprotéine seule.....	0,388
Sérum albumine.....	4,483
Extrait acétonique aqueux dégraissé.....	0,71 NaCl = 0,514
Lipides.....	0,63
Rapport globuline sur sérine.....	0,342
Rapport globuline + myxo-protéine sur sérine.....	0,768

TABLEAU IV : COMPARAISON DE LA SOMME DES DIVERSES FRACTIONS
AVEC LES PROTÉINES TOTALES

Résultats pour 100 cm³.

N° de l'opération	10	11	12	13	14	15	16	17
1. Sérum-globuline	2,422	2,28	1,35	1,344	2,898	1,372	1,036	1,247
2. Mélange de globuline et de myxo-protéine	0,802	—	1,194	0,845	—	1,513	1,476	1,476
3. Myxo-protéine pure	0,641	0,657	—	—	0,705	—	0,355	0,287
4. Sérum-albumine	4,42	4,516	4,501	5,122	3,555	3,708	5,069	5,008
5. Somme de 1 + 2 + 3 + 4	8,285	7,653	7,045	7,311	7,583	6,593	7,535	8,018
6. Protéines totales	8,50	7,662	7,055	7,70	7,525	6,96	8,04	8,50
7. Différences 6-5	0,215	0,009	0,010	0,389	0,367	0,505	0,482	0,326
Différences %	2,5	0,1	0,1	5,0	4,8	7,2	5,9	3,8

N° de l'opération	18	19	20	21	22	23	24	25
1. Sérum-globuline	2,051	1,353	1,743	2,698	1,90	1,537	3,555	3,021
2. Mélange de globuline et de myxo-protéine	—	0,96	1,76	—	0,74	1,52	—	—
3. Myxo-protéine pure	0,723	—	—	0,432	0,245	0,388	0,42	0,338
4. Sérum-albumine	4,975	4,683	3,391	3,465	5,583	4,483	3,583	4,50
5. Somme de 1 + 2 + 3 + 4	7,749	6,996	6,894	6,595	8,468	7,928	7,558	7,759
6. Protéines totales	8,075	7,41	6,925	6,969	8,985	8,385	7,94	8,05
7. Différence 6-5	0,114	0,114	0,031	0,374	0,517	0,407	0,382	0,191
Différences %	1,4	1,6	0,4	5,2	5,7	4,8	4,8	2,3

N° de l'opération	26	27	28	29	30	31	32
1. Sérum-globuline	4,836	2,093	1,951	1,395	2,058	1,496	2,053
2. Mélange de globuline et de myxo-protéine	1,433	1,802	1,806	1,858	1,527	1,84	1,84
3. Myxo-protéine pure	0,402	0,197	0,711	0,166	1,406	0,333	0,166
4. Sérum-albumine	3,541	3,338	3,948	3,861	3,194	3,111	2,566
5. Somme de 1 + 2 + 3 + 4	7,112	7,43	8,416	7,28	8,244	6,467	6,625
6. Protéines totales	7,625	7,525	8,525	7,625	8,375	6,79	6,85
7. Différences 6-5	0,513	0,095	0,109	0,345	0,131	0,323	0,225
Différences %	6,7	1,2	1,2	4,5	1,5	4,7	3,2

TABLEAU V : COMPARAISON DES PROTÉINES GLOBALES PESÉES ET DES PROTÉINES CALCULÉES
A PARTIR DE L'EXTRAIT SEC TOTAL

Résultats pour 100 cm³.

N° de l'opération.	10	11	12	13	14	15	16	17
1. Protéines totales	8,50	7,662	7,055	7,70	7,525	6,96	8,04	8,50
2. Filtrat acétonique desséché et pesé.	1,171	1,170	1,255	1,889	1,301	1,247	1,189	1,338
3. Somme de 1 + 2	9,671	8,832	8,31	9,589	8,826	8,207	9,229	9,838
4. Extrait sec total.	10,205	8,905	8,445	9,618	9,853	8,324	9,635	10,170
5. Différences 4-3	0,634	0,073	0,135	0,029	0,127	0,117	0,406	0,332
Différences %	6,2	0,8	1,5	0,3	1,4	1,4	4,2	3,2
N° de l'opération.	18	19	20	24	22	23	24	25
1. Protéines totales	8,075	7,11	6,925	6,969	8,985	8,335	7,94	8,05
2. Filtrat acétonique desséché et pesé.	1,306	1,21	1,067	1,229	1,188	1,34	1,455	1,142
3. Somme de 1 + 2	9,381	8,32	7,972	8,198	10,173	9,675	9,395	9,192
4. Extrait sec total.	9,46	8,595	8,22	8,24	10,335	9,725	9,65	9,30
5. Différences 4-3	0,079	0,275	0,228	0,042	0,162	0,050	0,285	0,108
Différences %	0,8	3,1	1,5	0,5	1,5	0,5	2,9	1,1
N° de l'opération.	26	27	28	29	30	31	32	
1. Protéines totales	7,625	7,525	8,525	7,625	8,375	6,79	6,85	
2. Filtrat acétonique desséché et pesé.	1,102	1,186	1,217	1,942	1,317	1,317	1,489	
3. Somme de 1 + 2	8,727	8,711	9,742	9,567	9,692	8,107	8,339	
4. Extrait sec total.	8,965	8,895	10,13	9,65	9,925	8,217	8,425	
5. Différences 4-3	0,238	0,184	0,388	0,083	0,233	0,210	0,086	
Différences %	2,6	2,0	3,8	0,8	2,3	2,5	1,0	

TABLEAU VI : RESULTATS ANALYTIQUES

N° de l'opération, cas et volume mis en œuvre	10		11		12		13	
	Femme hyperurémie avec albuminurie hôpital Beaujon Dr Debray	20 cc. 1 cc. 8 H Cl N/100	Femme asthénisée hôpital Beaujon Dr Debray	20 cc. 1 cc. 7 H Cl N/100	Syphilis B. W. positif hôpital Beaujon Dr Feuilhé	20 cc. 1 cc. 6 H Cl N/100	Diabète B. W. négatif Sérum lactescent hôpital Beaujon Dr Feuilhé	15 cc. 1 cc. 4 H Cl N/100
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur pro éque								
Protéines totales		8,50		7,662		7,055		7,70
Sérum-globuline		2,422		2,28		4,35		1,344
Mélange de globuline et de myxo-protéine		0,802		—		1,194		0,845
Myxo-protéine pure		0,641		0,857		—		—
Sérum-albumine		4,42		4,516		4,501		5,122
Rapports globuline sur sérine		0,547		0,504		0,299		0,262
Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine ..		0,874		0,694		0,565		0,423
Extrait acétonique aqueux dégraissé		0,661		0,535		0,755		0,623
Lipides		0,51		0,655		0,50		1,266
N° de l'opération, cas et volume mis en œuvre	14		15		16		17	
	Asthénie B. W. négatif hôpital Beaujon Dr Feuilhé	20 cc. 1 cc. 6 H Cl N/100	Diabète hôpital Beaujon Dr Debray	20 cc. 1 cc. 6 H Cl N/100	Hypertension hôpital Beaujon Dr Debray	20 cc. 1 cc. 6 H Cl N/100	Myxœdème hôpital Beaujon Dr Debray	20 cc. 1 cc. 6 H Cl N/100
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur protéique								
Protéines totales		7,525		6,96		8,04		8,50
Sérum-globuline		2,898		4,372		4,036		1,247
Mélange de globuline et de myxo-protéine		—		4,513		4,075		1,476
Myxo-protéine pure		0,705		—		0,355		0,287
Sérum-albumine		3,555		3,708		5,069		5,008
Rapports globuline sur sérine		0,812		0,370		0,204		0,249
Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine ..		1,013		0,778		0,486		0,601
Extrait acétonique aqueux dégraissé		0,670		0,661		0,567		0,692
Lipides		0,631		0,586		0,622		0,646

N° de l'opération cas et volume mis en œuvre		18	19	20	21
		Cardiaque Hôpital Beaujon Dr Debray 20 cc.	Aortite Hôpital Beaujon Dr Debray 20 cc.	Néphrite Hôpital Beaujon Dr Soulié 20 cc.	Asystolie Hôpital Laënnec Dr Névet 20 cc.
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur protéique		1 cc. 8 H Cl N/100	1 cc. 7 H Cl N/100	1 cc. 4 H Cl N/100	1 cc. 5 H Cl N/100
Protéines totales		8,075	7,41	6,925	6,969
Sérum-globuline		2,051	1,353	1,743	2,698
Mélange de globuline et de myxo-protéine		—	0,96	0,76	—
Myxo-protéine pure		0,723	—	—	0,432
Sérum-albumine		4,975	4,683	3,391	3,465
Rapports globuline sur sérine		0,412	0,288	0,514	0,778
Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine		0,557	0,493	1,033	0,903
Extrait acétonique aqueux dégraissé		0,906	0,58	0,502	0,872
Lipides		0,40	0,63	0,565	0,357

N° de l'opération cas et volume mis en œuvre		22	23	24	25
		Même asystolie après traitement 20 cc.	Otite Hôpital Beaujon Dr Debray 20 cc.	Femme en période de convulsions Hôpital Laënnec Dr Névet 20 cc.	Diabète avec albuminurie Hôpital Beaujon Dr Debray 20 cc.
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur protéique		1 cc. 7 H Cl N/100	1 cc. 6 H Cl N/100	1 cc. 5 H Cl N/100	1 cc. 6 H Cl N/100
Protéines totales		8,985	8,335	7,94	8,05
Sérum-globuline		1,90	1,537	1,537	3,021
Mélange de globuline et de myxo-protéine		0,74	1,52	—	—
Myxo-protéine pure		0,245	0,388	0,42	0,338
Sérum-albumine		5,583	4,483	3,583	4,50
Rapports globuline sur sérine		0,340	0,342	0,992	0,671
Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine		0,516	0,768	1,409	0,746
Extrait acétonique aqueux dégraissé		0,761	0,71	0,75	0,737
Lipides		0,427	0,63	0,705	0,405

26. Syphilis Hôpital Beaunjon Dr Debray 20 cc.		27. Néphrite Hôpital Beaunjon Dr Debray 20 cc.		28. Cardiaque Hôpital Beaunjon Dr Barrié 20 cc.		29. Cardiaque Hôpital Beaunjon Dr Hamburger 20 cc.	
N° de l'opération cas et volume mis en œuvre		1 cc. 5 H Cl N/100		1 cc. 7 H Cl N/100		1 cc. 9 H Cl N/100	
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur protéique		1 cc. 5 H Cl N/100		1 cc. 7 H Cl N/100		1 cc. 9 H Cl N/100	
Protéines totales		7,625		8,525		7,625	
Sérum-globuline		1,836		1,951		1,395	
Mélangé de globuline et de myxo-protéine		1,433		1,802		1,858	
Myxo-protéine pure		0,402		0,197		0,166	
Sérum-albumine		3,541		3,338		3,861	
Rapports globuline sur sérine		0,518		0,627		0,361	
Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine		1,036		1,225		0,885	
Extrait acétonique aqueux dégraissé		0,565		0,675		1,287	
Lipides		0,537		0,511		0,655	

30. Pneumonie Hôpital Laennec Dr Nérot 20 cc.		31. Néphrite Hôpital Beaunjon Dr Escalier 20 cc.		32. Urémie Hôpital Laennec Dr Nérot 20 cc.	
N° de l'opération cas et volume mis en œuvre		1 cc. 5 H Cl N/100		1 cc. 5 H Cl N/100	
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur protéique		1 cc. 7 H Cl N/100		1 cc. 5 H Cl N/100	
Protéines totales		8,375		6,79	
Sérum-globuline		2,058		1,496	
Mélangé de globuline et de myxo-protéine		1,586		1,527	
Myxo-protéine		1,406		0,333	
Sérum-albumine		3,194		3,111	
Rapports globuline sur sérine		0,644		0,480	
Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine		1,612		1,078	
Extrait acétonique aqueux dégraissé		0,737		0,81	
Lipides		0,58		0,507	

Si on examine les bilans des tableaux IV et V, on voit que les pertes observées aussi bien sur les protides globaux (tableau V) que sur les divers protides (tableau IV) sont de même ordre de grandeur que celles observées pour les sérums normaux.

Elles sont de l'ordre de 0,1 à 7,2 %, pour le dosage des protides totaux, et de 0,3 à 6,2 pour le fractionnement de ces protides.

Ces états pathologiques ne sont donc pas un empêchement à l'application de la méthode à l'acétone.

Nous remarquons toutefois que la séparation de la myxoprotéine de Piettre est plus délicate que dans les sérums normaux. Dans certains cas, la séparation complète n'a pas été obtenue (obs. 12, 13, 15, 16, etc.).

Le chiffre global ne semble pas s'écarter très notablement de celui que nous avons observé sur les sérums normaux.

Le chiffre le plus haut (obs. 22) est de 8,98, et celui le plus bas (obs. 31) 6,79.

Par contre, les variations dans le rapport

$$\frac{\text{globuline} + \text{myxo-protéine}}{\text{sérine}}$$

sont beaucoup plus considérables, comme le montre le graphique ci-joint où les sérums sont rangés par ordre de protide croissant (somme de sérine + globuline + myxoprotéine).

Pour chacun d'eux nous avons porté en ordonnée le chiffre de sérine. Le trait en pointillé indique un rapport de

$$\frac{\text{globuline} + \text{myxo-protéine}}{\text{sérine}} = 1.$$

On voit d'abord que pour les protides globales, il n'y a pas de teneur favorisée, nos chiffres viennent se disposer régulièrement le long d'une droite.

En ce qui concerne le rapport $\frac{\text{globuline} + \text{myxo-protéine}}{\text{sérine}}$, les variations observées peuvent être considérables, ce rapport pouvant aller de 1,581 (obs. 32) à 0,423 (obs. 13). En dehors du cas 24 où le rapport est très proche de 1, il y a à peu près autant de cas au-dessus de 1 (10 cas) que au-dessous de 1 (12 cas).

Si l'on examine la répartition en fonction de diagnostic, on

constate que tous les cas portés sous l'indication néphrite (31-20-27), azotémie (21), urémie (32) ont un rapport > 1 (excès de sérine).

Par contre, les 3 cas de diabète (15-13-17) ont un rapport < 1 .

Ce sont les seules indications nettes que cette enquête forcément restreinte permet de dégager.

CHAPITRE III

LIQUIDES PLEURAUX ET SÉRUMS CORRESPONDANTS

Il nous a semblé intéressant de soumettre à la technique de Piettre, à la fois des liquides pathologiques (pleurétiques et ascitiques et des sérums correspondants.

Nous groupons nos résultats en mettant à côté du liquide, le sérum du même sujet.

Ces résultats, dans ce chapitre et les deux suivants, sont présentés de la même manière que nos résultats précédents, c'est-à-dire en 3 tableaux.

1^{er} Exemple : détails de l'opération n° 41. Liquide pleural. Hôpital Beaujon. Dr Hamburger.

Volume de liquide recueilli : 87 cmc.

Fibrine séparée, lavée, pesée : 0,0632 0,549 %

Teneur en matière sèche sur 2 cmc. : 0,1352 6,76 %

Volume mis en œuvre : 20 cmc.

Précipitation acétonique. — Acétone pour précipiter : 50 cmc.

2 lavages à l'acétone : 52 cmc.

5 lavages à l'éther : 80 cmc.

Protéines reprises par 20 cmc. d'eau, étendus à 30 cmc.

Essai de floculation des 3 cmc. répartis en 6 tubes à hémolyse.

Optimum *rectifié* de floculation avec 0 cmc. 5 HCl N/100 et pour 1 cmc. : 1,1 HCl N/100.

Restent $27 \times 1 \text{ cc.} = 29,7 \text{ HCl N/100} = 2,97 \text{ HCl N/10.}$

Saturation à l'éther, addition de 2,97 HCl N/10 et de 10 cmc. d'eau.

Sérum-globuline. — Centrifugée, lavée, et redissoute dans 36 cmc. d'eau avec 1 cmc. NaOH N/10.

Sec sur 4 cmc. : 0,0346 1,73 %

Myxoprotéine. — Liquide sérique précipité à froid par son volume d'acétone.

Myxoprotéine centrifugée, lavée, dissoute dans 18 cmc. d'eau physiologique à 9 % de NaCl.

Sec sur 4 cmc. : 0,0563 et après déduction de NaCl :
 0,0203 0,507 %
Sérum-albumine. — Purifiée par 3 précipitations acétoniques
 et reprise par 36 cmc. d'eau distillée.
 Sec sur 4 cmc. : 0,0487 2,685 %
 Cendres à l'état de traces.
 Pouvoir rotatoire sur 10 cmc. α_D : — 0°48'.
 α_D : — 66°13'.
Extrait sec, acétonique aqueux dégraissé. — On
 pèse : 0,1755 0,8775 %
Lipides. — On pèse 0,21 %
NaCl. — L'extrait aqueux dégraissé est repris par 18 cmc.
 d'eau distillée.
 Titrage de NaCl par 5 cmc. : 4 cmc. de Ag No³ N/10.
 NaCl = 0,028 0,484 %

Composition pour cent.

Fibrine	0,0547
Extrait sec total	6,76
Sérum-globuline	1,73
Myxoprotéine seule	0,507
Sérum-albumine	2,685
Extrait sec dégraissé	0,877 — NaCl : 0,484
Lipides	0,21
Rapport globuline sur sérine	0,603
Rapport globuline + myxo-protéine sur sé- rine	0,780

2^e Exemple : détails de l'opération n° 42.

Sérum correspondant à l'opération n° 41.

Volume de sérum mis en œuvre : 8 cmc.

Teneur en matière sèche sur 1 cmc. : 0,1009 10,09 %

Précipitation acétonique. — Acétone pour précipiter :
 20 cmc.

2 lavages à l'acétone : 23 cmc.

5 lavages à l'éther : 57 cmc.

Protéines reprises par 20 cmc. d'eau, étendus à 30 cmc.

Essai de floculation sur 3 cmc. répartis en 6 tubes à hémolyse.

Optimum rectifié de floculation avec 0 cmc. 45 HCl N/100 et
 pour 1 cmc. : 0,9 HCl N/100.

Restent $27 \times 0,9 \text{ HCl N/100} = 24,30 \text{ HCl N/100} = 2,43 \text{ HCl N/10}$.

Saturation à l'éther, addition de $2,43 \text{ HCl N/10}$ et de 10 cmc. d'eau .

Le contenu des 6 tubes après floculation est séché :

$0,0695 \dots\dots\dots 0,687 \%$

Sérum-globuline. — Centrifugée, lavée et séchée :

$0,1422 \dots\dots\dots 1,975 \%$

Myxoprotéine. — Liquide sérique précipité à froid par son volume d'acétone.

Myxoprotéine (mélangée de globuline) lavée et séchée : $0,2187 \dots\dots\dots 3,037 \%$

Myxoprotéine pure (2^e précipitation acétonique) :

$0,0223 \dots\dots\dots 0,309 \%$

Soit. $\dots\dots\dots 3,346 \%$

Sérum-albumine. — Purifiée par 2 précipitations acétoniques et reprise par $40 \text{ cmc. d'eau distillée}$.

Sec sur $2 \text{ cmc.} : 0,0113 \dots\dots\dots 3,138 \%$

Extrait sec acétonique aqueux dégraissé. — On

pèse : $0,0472 \dots\dots\dots 0,59 \%$

Lipides. — On pèse : $0,0490 \dots\dots\dots 0,612 \%$

NaCl. — L'extrait aqueux dégraissé est repris par $20 \text{ cmc. d'eau distillée}$.

Titrage de NaCl pour $5 \text{ cmc.} : 1 \text{ cmc.6 de AgN } 0,3 \text{ N/10}$.

NaCl : $0,00936 \dots\dots\dots 0,465 \%$

Composition pour cent.

Extrait sec total.	10,09	
Protéines totales.	8,687	
Sérum-globuline.	1,975	
Mélange de globuline et de myxoprotéine. .	3,037	
Myxoprotéine seule.	0,309	
Sérum-albumine.	3,138	
Extrait sec dégraissé.	0,59	— NaCl : 0,465
Lipides.	0,612	
Rapport globuline sur sérine :	0,629	
Rapport globuline + myxo-protéine sur sé- rine.	1,695	

TABLEAU VII : COMPARAISON DES PROTIDES GLOBAUX PESES ET DES PROTIDES CALCULES
A PARTIR DE L'EXTRAIT SEC TOTAL

Résultats pour 100 cm³.

N° de l'opération	33 L	34 S	35 L	36 S	37 L	38 S	39 L	40 S
1. Protéines totales	6,112	7,99	6,35	7,666	2,175	6,30	5,377	6,57
2. Filtrat acétonique desséché et pesé	0,887	1,165	0,968	1,039	1,049	1,219	1,48	1,317
3. Somme de 1 + 2	6,999	9,155	7,318	8,705	3,224	7,519	6,557	7,887
4. Extrait sec total	7,16	9,40	7,76	8,965	3,275	7,80	6,70	8,165
5. Différences	0,161	0,245	0,442	0,260	0,051	0,281	0,140	0,278
6. Différences %	2,2	2,6	5,6	2,9	4,5	3,6	2,0	3,4

N° de l'opération	41 L	42 S	43 L	44 S	45 L	46 S	47 S	48 S
1. Protéines totales	5,25	8,687	5,025	8,16	6,22	8,06	8,12	8,446
2. Filtrat acétonique desséché et pesé	4,087	1,202	1,039	1,164	1,127	1,44	1,665	1,268
3. Somme de 1 + 2	6,337	9,889	6,064	9,324	7,341	9,50	9,785	9,714
4. Extrait sec total	6,66	10,09	6,30	9,73	7,63	9,70	10,16	10,13
5. Différences	0,323	0,201	0,236	0,406	0,283	0,200	0,375	0,416
Différences %	4,8	1,9	3,7	4,2	3,7	2,0	3,6	4,1

TABLEAU VIII : COMPARAISON DE LA SOMME DES DIVERSES FRACTIONS
AVEC LES PROTÉINES TOTALES

Résultats pour 100 cm³.

N° de l'opération	33 L	34 S	35 L	36 S	37 L	38 S	39 L	40 S
1. Sérum-globuline	2,54	2,307	2,504	2,628	0,452	1,868	1,72	2,225
2. Mélange de globuline et de myxo-protéine	—	—	1,083	1,916	0,229	1,297	—	1,219
3. Myxo-protéine	0,70	1,255	0,326	0,10	—	—	0,368	—
4. Sérum-albumine	2,84	4,20	2,15	2,694	1,375	2,90	3,253	2,97
5. Somme de 1 + 2 + 3 + 4	6,08	7,762	6,063	7,338	2,056	6,065	5,341	6,444
6. Protéines totales	6,112	7,99	6,35	7,666	2,175	6,30	5,377	6,57
7. Différences 6-5	0,032	0,228	0,287	0,328	0,119	0,235	0,036	0,156
Différences %	0,5	2,8	4,5	4,2	5,4	3,7	0,6	2,3

N° de l'opération	41 L	42 S	43 L	44 S	45 L	46 S	47 L	48 S
1. Sérum-globuline	1,73	1,975	1,348	2,656	2,18	2,10	2,983	2,382
2. Mélange de globuline et de myxo-protéine	—	3,037	0,978	1,294	1,30	2,341	2,015	1,874
3. Myxo-protéine pure	0,507	0,309	—	—	—	0,19	0,265	0,088
4. Sérum-albumine	2,865	3,138	2,333	4,00	2,69	3,333	2,666	3,811
5. Somme de 1 + 2 + 3 + 4	5,102	8,459	4,659	7,95	6,17	7,964	7,929	8,165
6. Protéines totales	5,25	8,687	5,025	8,16	6,22	8,06	8,12	8,446
7. Différences 6-5	0,148	0,228	0,366	0,210	0,050	0,076	0,191	0,281
Différences %	2,8	2,6	7,2	2,5	0,8	0,9	2,3	3,3

TABLEAU IX : RESULTATS ANALYTIQUES COMPLETS

N° de l'opération cas et volume mis en œuvre	33		34		35		36	
	Liquide pleural Hôpital Beaujon Dr Bariéty 20 cc.	1 cc. 4 H Cl N/100	Sérum correspondant à l'opération n° 33 40 cc.	0 cc. 7 H Cl N/100	Liquide pleural Hôpital Beaujon Dr Hamburger 20 cc.	1 cc. 7 H Cl N/100	Sérum correspondant à l'opération n° 35 20 cc.	1 cc. 2 H Cl N/100
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur protéique								
Protéines totales								
Sérum-globuline		6,112	7,99	7,99		6,35	7,666	
Mélange de globuline et de myxo-protéine		2,54	2,307	2,307		2,504	2,628	
Myxo-protéine pure		—	—	—		1,083	1,916	
Sérum-albumine		0,70	1,255	1,255		0,326	0,40	
Rapports globuline sur sérine		2,84	4,20	4,20		2,15	2,694	
Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine		0,894	0,549	0,549		1,164	0,975	
Extrait acétonique aqueux dégraissé		1,140	0,848	0,848		1,820	1,723	
Lipides		0,717	0,745	0,745		0,746	0,624	
		0,17	0,42	0,42		0,222	0,415	
N° de l'opération, cas et volume mis en œuvre	37		38		39		40	
	Liquide pleural Hôpital Beaujon Dr Hamburger 20 cc.	0 cc. 8 H Cl N/100	Sérum correspondant à l'opération n° 37 20 cc.	1 cc. 6 H Cl N/100	Liquide pleural Hôpital Beaujon Dr Hamburger 20 cc.	1 cc. H Cl N/100	Sérum correspondant à l'opération n° 39 20 cc.	1 cc. 6 H Cl N/100
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur protéique								
Protéines totales								
Sérum-globuline		2,175	6,30	6,30		5,377	6,57	
Mélange de globuline et de myxo-protéine		0,452	1,868	1,868		1,72	2,225	
Myxo-protéine pure		0,229	1,297	1,297		—	1,219	
Sérum-albumine		—	—	—		0,368	—	
Rapports globuline sur sérine		4,375	2,90	2,90		3,253	2,97	
Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine		0,328	0,644	0,644		0,528	0,749	
Extrait acétonique aqueux dégraissé		0,495	1,091	1,091		0,641	1,159	
Lipides		0,915	0,704	0,704		0,89	0,826	
		0,134	0,515	0,515		0,29	0,491	

N° de l'opération, cas et volume
mis en œuvre.....

Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur
protéique

Protéines totales

Sérum-globuline

Mélange de globuline et de myxo-protéine

Myxo-protéine pure

Sérum-albumine

Rapports globuline sur sérine

Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine

Extrait acétonique aqueux dégraissé

Lipides

N° de l'opération, cas et volume
mis en œuvre.....

Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liqueur
protéique

Protéines totales

Sérum-globuline

Mélange de globuline et de myxo-protéine

Myxo-protéine pure

Sérum-albumine

Rapports globuline sur sérine

Rapports globuline + myxo-protéine sur sérine

Extrait acétonique aqueux dégraissé

Lipides

41	42	43	44
Liquide pleural Hôpital Beaujon Dr Hanburger	Sérum correspondant à l'opération n° 41	Liquide pleural Hôpital Beaujon Dr Hanburger	Sérum correspondant à l'opération n° 43
20 cc.	8 cc.	20 cc.	20 cc.
1 cc. H Cl	0 cc. 9 H Cl	1 cc. 4 H Cl	1 cc. 9 H Cl
N/100	N/100	N/100	N/100
5,25	8,687	5,025	8,16
1,73	4,975	4,348	2,656
—	3,037	0,978	1,294
0,507	0,309	—	—
2,865	3,138	2,333	4,00
0,603	0,629	0,577	0,664
0,780	1,695	0,996	0,987
0,877	0,59	0,814	0,639
0,21	0,612	0,225	0,525

45	46	47	48
Liquide pleural Hôpital Beaujon Dr Baridty	Sérum correspondant à l'opération n° 45	Sérum correspondant à l'opération n° 35, sang pris après trai- tement de la pleu- résie.	Sérum correspondant à l'opération n° 41, sang pris après trai- tement de la pleu- résie.
20 cc.	20 cc.	20 cc.	15 cc.
1 cc. 3 H Cl	1 cc. 7 H Cl	2 cc. 1 H Cl	1 cc. 5 H Cl
N/100	N/100	N/100	N/100
6,22	8,06	8,12	8,446
2,18	2,10	2,983	2,392
1,30	2,341	2,015	1,874
—	0,19	0,265	0,088
2,69	3,333	2,666	3,811
0,810	0,630	1,118	0,627
1,293	1,389	1,974	1,116
0,847	0,949	1,311	0,602
0,28	0,491	0,354	0,666

Si nous étudions ces chiffres, nous retrouvons d'abord les mêmes erreurs à peu près que dans les autres cas. La technique est donc applicable aux liquides pleuraux. On peut ensuite remarquer que si la teneur globale en protides du sérum varie dans les limites habituelles (6,30 à 8,60) les variations sont beaucoup marquées dans les liquides pleuraux (3,25 à 7,93).

D'autre part, le taux des protides totaux est toujours inférieur dans les liquides pleuraux à celui des sérums correspondants.

De plus, sauf dans le cas 39-40 où la sérine de liquide pleural (3,25) dépasse à peine celle du sérum (2,97), cette infériorité se manifeste aussi bien pour la sérine que pour la globuline. On peut dire, si l'on admet que le liquide pleural résulte d'un passage de plasma sanguin à travers les vaisseaux, qu'il ne se produit jamais une concentration des constituants du plasma au moment de ce passage.

Enfin, il n'est pas possible de constater la moindre liaison entre la valeur de rapport $\frac{\text{globuline} + \text{myxo-protéine}}{\text{sérine}}$ dans le même sérum et celle du liquide pleural.

La filtration, si elle a lieu, s'exerce d'une façon distincte sur la globuline et sur la sérine sans que nous en distinguions les raisons.

CHAPITRE IV

LIQUIDES D'ASCITE ET SÉRUMS CORRESPONDANTS

Nous avons, dans ce chapitre, soumis à la méthode de Piettre 5 liquides d'ascite et les sérums correspondants. Nos résultats sont présentés comme précédemment.

1^{er} exemple : détails de l'opération n° 57. Liquide d'ascite, hôpital Beaujon, Dr Bariéty.

Volume de liquide recueilli : 92 cmc.

Traces de fibrine.

On concentre 65 cmc. sur vide sulfurique et reprend par 25 cmc. d'eau distillée.

Volume de liquide concentré mis en œuvre : 20 cmc.

Teneur en matière sèche sur 2 cmc. : 0,0586..... 2,90 %

Précipitation acétonique. — Acétone pour précipiter : 50 cmc.

• 2 lavages à l'acétone : 54 cmc.

5 lavages à l'éther : 92 cmc.

Protéines reprises par 20 cmc. d'eau, étendus à 30 cmc.

Essai de floculation sur 3 cmc. répartis en 6 tubes à hémolyse.

Optimum *rectifié* de floculation avec 1 cmc. 2 HCl N/100 et pour 1 cmc. : 2,4 HCl N/100.

Restent $27 \times 2,4 = 64,80$ HCl N/100 = 6,48 HCl N/10.

Saturation à l'éther, addition de 6,48 HCl N/10 et de 13 cmc. d'eau.

Le contenu de 12 tubes après floculation est
séché : 0,1215..... 1,168 %

Sérum-globaline. — Centrifugée, lavée, séchée :
0,2322..... 0,558 %

Myxoprotéine. — Centrifugée, lavée et séchée :
0,1006..... 0,241 %

Absence de nouvelle séparation par précipitation acétonique.

Sérum-albumine. — Purifiée par précipitation acétonique et reprise par 30 cmc. d'eau distillée.

Sec sur 2 cmc. : 0,0095..... 0,342 %

Extrait sec acétonique aqueux dégraissé. — On

pèse : 0,5642..... 1,085 %

Lipides. — On pèse 0,3110..... 0,598 %

NaCl. — L'extrait aqueux dégraissé est repris par 20 cmc. d'eau distillée.

Titrage de NaCl sur 5 cmc. : 19 cmc. de AgN 03 N/10.

NaCl : 0,1146..... 0,881 %

Composition pour cent.

Extrait sec total.....	2,90
Protéines totales.....	1,168
Sérum-globuline.....	0,558
Myxoprotéine.....	0,241
Sérum-albumine.....	0,342
Extrait acétonique aqueux dégraissé.....	1,085 — Na Cl : 0,881
Lipides.....	0,598
Rapport globuline sur sérine.....	1,631
Rapport globuline + myxo-protéine sur sérine.....	2,336

2^e exemple : Détails de l'opération n° 58.

Sérum correspondant à l'opération n° 57.

Volume de sérum mis en œuvre : 20 cmc.

Teneur en matière sèche sur 2 cmc. : 0,2136. 10,68 %

Précipitation acétonique. — Acétone pour précipiter : 50 cmc.

2 lavages à l'acétone : 53 cmc.

5 lavages à l'éther : 84 cmc.

Protéines reprises par 20 cmc. d'eau, étendus à 30 cmc.

Essai de floculation sur 3 cmc. répartis en 6 tubes à hémolyse.

Optimum *rectifié* de floculation avec 0 cmc. 75 HCL N/100 et pour 1 cmc. = 1,5 HCL N/100.

Restent 27 + 1,5 = 40,50 HCL N/100 = 4,05 HCL N/10.

Saturation à l'éther, addition de 4,05 HCL N/10 et de 10 cmc. d'eau.

Le contenu des 6 tubes après floculation est séché	
= 0,1759.....	8,795 %
<i>Sérum-globuline.</i> — Centrifugée, lavée, séchée =	
0,3877.....	2,253 %
<i>Myxoprotéine.</i> — Liquide sérique précipité à froid par son volume d'acétone 48 cmc.	
Myxoprotéine centrifugée, lavée, séchée = 0,2230.	1,238 %
Myxoprotéine de 2 ^e précipitation = 0,0096.....	0,053 %
soit.....	1,291 %
<i>Sérum-albumine.</i> — Purifiée par précipitations acétoniques et reprise par 30 cmc. d'eau distillée.	
sec sur 2 cmc. = 0,0606.....	5,05 %
<i>Extrait sec acétonique aqueux dégraissé.</i> — On	
pèse 0,1268.....	0,634 %
<i>Lipides.</i> — On pèse 0,0803.....	0,401 %
<i>NaCl.</i> — L'extrait aqueux dégraissé est repris par 20 cmc. d'eau distillée.	
Titrage de NaCl sur 5 cmc. = 3 cmc. 4 de AgN 03 N/10.	
NaCl = 0,0198.....	0,396 %

COMPOSITION POUR CENT

Extrait sec total.....	10,68
Protéines totales.....	8,795
Sérum-globuline.....	2,253
Myxoprotéine.....	1,291
Sérum-albumine.....	5,05
Extrait acétonique aqueux dégraissé.....	0,634 — NaCl = 0,396
Lipides.....	0,401
Rapport globuline sur sérine.....	0,446
Rapport globuline + myxo-protéine sur sérine.....	0,701

TABLEAU X : COMPARAISON DES PROTIDES GLOBAUX PESÉS ET DES PROTIDES CALCULÉS
A PARTIR DE L'EXTRAIT SEC TOTAL

N° de l'opération	Résultats pour 100 cm ³ .									
	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58
	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S
1. Protéines totales	1,479	7,85	0,305	7,115	2,49	8,385	0,506	5,90	1,468	8,795
2. Filtrat acétonique desséché et pesé	0,887	1,146	1,222	1,09	1,033	1,057	1,619	1,277	1,683	1,035
3. Somme de 1 + 2	2,366	8,996	1,527	8,205	3,523	9,442	2,125	7,177	2,851	9,83
4. Extrait sec total	2,50	9,075	1,60	8,315	3,82	9,557	2,385	7,26	2,90	10,68
5. Différences 4-3	0,134	0,079	0,073	0,110	0,297	0,145	0,260	0,083	0,049	0,850
Différences %	5,3	0,8	4,5	1,3	7,7	1,2	10,9	1,1	4,6	7,9

TABLEAU : COMPARAISON DE LA SOMME DES DIVERSES FRACTIONS
AVEC LES PROTÉINES TOTALES

N° de l'opération	Résultats pour 100 cm ³ .									
	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58
	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S
1. Sérum-globuline.....	0,55	1,551	0,123	2,256	0,72	2,593	0,213	1,954	0,558	2,253
2. Mélange de globuline et de myxo-protéine.	—	2,641	—	1,877	—	2,857	—	—	—	—
3. Myxo-protéine pure	0,044	—	0,088	0,067	0,51	0,442	0,070	0,811	0,241	1,291
4. Sérum-albumine	0,87	3,343	0,070	2,833	1,145	2,111	0,189	2,70	0,342	5,05
5. Somme de 1 + 2 + 3 + 4	1,464	7,535	0,281	7,033	2,375	8,003	0,472	5,465	1,141	8,594
6. Protéines totales	1,479	7,85	0,305	7,115	2,49	8,385	0,506	5,90	1,168	8,795
7. Différences 6-5	0,015	0,315	0,024	0,082	0,115	0,382	0,034	0,435	0,027	0,201
Différences %	1,0	4,0	7,8	1,0	4,6	4,5	6,7	8,7	2,3	2,2

Résultats pour 100 cm³.

N° de l'opération, cas et volume mis en œuvre...	49			50			51			52			53		
	Liquide d'ascite Hôpital Beaugon Dr Hamburger 20 CC.	d'une solution représentant 62 cc. 5 de liquide initial		Sérum correspondant à l'opération n° 49 20 CC.	Liquide d'ascite Hôpital Beaugon Dr Escalier 20 CC.		Liquide d'ascite Hôpital Beaugon Dr Escalier 20 CC.			Sérum correspondant à l'opération n° 51 20 CC.			Liquide d'ascite Hôpital Beaugon Dr Bariéty 20 CC.		
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liquide protéique	2 CC. 6 H Cl	N/100		1 CC. 3 H Cl	2 CC. 6 H Cl	N/100	1 CC. 2 H Cl	N/100	1 CC. 6 H Cl	N/100			N/100		
Protéines totales	1,479	0,55	0,044	7,85	0,305	0,088	7,115	0,305	0,067	2,49			2,49		
Sérum-globuline	0,55	—	0,87	1,551	0,423	0,070	2,256	0,423	0,077	2,49			0,72		
Mélange de globuline et de myxo-protéine	—	—	0,632	2,641	—	0,796	1,877	—	0,51	—			—		
Myxo-protéine pure	0,044	—	0,682	—	—	3,014	—	—	4,145	—			—		
Sérum-albumine	0,87	—	0,84	—	—	0,928	—	—	4,073	—			—		
Rapports globuline sur sérine	0,632	—	0,947	—	—	0,294	—	—	0,94	—			—		
Rapports globuline+myxo-protéine sur sérine...	0,682	—	—	—	—	—	—	—	0,093	—			—		
Extrait acétonique aqueux dégraissé	0,84	—	—	—	—	—	—	—	—	—			—		
Lipides	0,947	—	—	—	—	—	—	—	—	—			—		

N° de l'opération, cas et volume mis en œuvre...	54			55			56			57			58		
	Sérum correspondant à l'opération n° 53 12 CC.	Liquide d'ascite Hôpital Beaugon Dr Hamburger 20 CC.		Liquide d'ascite Hôpital Beaugon Dr Hamburger 20 CC.	Sérum correspondant à l'opération n° 55 20 CC.		Sérum correspondant à l'opération n° 56 20 CC.			Liquide d'ascite Hôpital Beaugon Dr Bariéty 20 CC.			Sérum correspondant à l'opération n° 57 20 CC.		
Optimum rectifié de floculation pour 1 cc. de liquide protéique	0 CC. 8 H Cl	N/100		3 CC. 9 H Cl	1 CC. 3 H Cl	N/100	1 CC. 3 H Cl	N/100	1 CC. 5 H Cl	N/100			N/100		
Protéines totales	8,385	2,593	2,857	0,506	5,90	0,811	0,811	0,811	0,241	0,342			8,795		
Sérum-globuline	2,593	0,243	0,442	0,243	1,954	2,70	2,70	2,70	0,342	1,631			2,253		
Mélange de globuline et de myxo-protéine	2,857	—	0,442	—	—	0,723	0,723	0,723	1,631	2,336			0,701		
Myxo-protéine pure	0,442	—	0,442	—	—	1,497	1,497	1,497	1,085	4,085			4,085		
Sérum-albumine	2,111	—	2,111	—	—	1,091	1,091	1,091	0,705	0,598			0,634		
Rapports globuline sur sérine	1,227	—	2,111	—	—	0,616	0,616	0,616	0,705	0,598			0,634		
Rapports globuline+myxo-protéine sur sérine...	2,791	—	2,791	—	—	0,441	0,441	0,441	0,705	0,598			0,634		
Extrait acétonique aqueux dégraissé	0,616	—	0,441	—	—	—	—	—	0,705	0,598			0,634		
Lipides	0,441	—	0,441	—	—	—	—	—	0,705	0,598			0,634		

Dans ce cas comme dans les sérums correspondants, nous retrouvons des erreurs de même ordre.

La teneur en albumine totale de ces liquides est notablement inférieure à celle des liquides pleuraux.

Elle varie de 0,305 à 2,49 %. Les sérums correspondants, sauf le n° 56 (5,90 %) présentent des taux de protides totaux voisins de la normale (7,115 à 8,79)

Comme dans le cas des liquides pleuraux, les rapports $\frac{\text{Globuline} + \text{Myxoprotéine}}{\text{Sérine}}$ dans le liquide et dans le sérum sont tout-à-fait différents.

Les conclusions qu'on peut tirer de ces faits sont les mêmes.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1° Nous avons mis au point la méthode à l'acétone de Piettre et Vila et montré qu'elle pouvait être utilisée dans un but analytique.

2° Nous avons montré qu'elle était en bonne concordance avec la méthode aux sels. Il semble résulter de notre étude que la myxoprotéine, qui doit être comptée comme globuline, est précipitée avec la globuline dans la méthode aux sels d'une façon irrégulière par le sulfate de soude tantôt partiellement (sérums normaux) tantôt totalement (sérums pathologiques).

3° Nous avons montré, à l'aide de la méthode de Kumagava, que la quantité des lipides retenus après le traitement acétonique et éthéré, était relativement peu abondante.

4° Nous avons appliqué à toute une série de sérums normaux et pathologiques cette méthode.

Si les variations des protides totaux sont relativement peu importantes (62 à 83), les rapports relatifs de la globuline et de la sérine sont, par contre, très marqués. La moyenne de ces rapports peut être de 1 et les variations ont lieu dans les deux sens.

5° Nous avons enfin utilisé cette méthode pour l'étude des liquides pleuraux et ascitiques et des sérums correspondants ; le taux des albumines totales, de la globuline et de la

sérine sont toujours inférieurs à ceux des sérums, montrant qu'il n'y a jamais concentration; mais par contre, le rapport Globuline + Myxo-protéine est tout à fait différent dans les Sérine deux cas et la variation a lieu dans les deux sens, ce qui montre que, s'il y a filtration, cette filtration s'exerce différemment sur les divers constituants.

Vu : le Président de la thèse,
GRIMBERT.

Vu : le Doyen,
RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

737. — Imp. de la Faculté de Médecine, Jouve & Cie, 15, rue Racine, Paris. — 3-30
